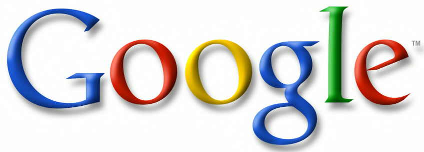
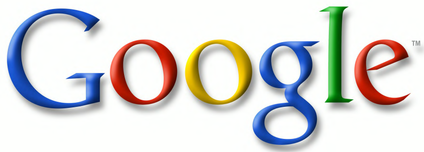
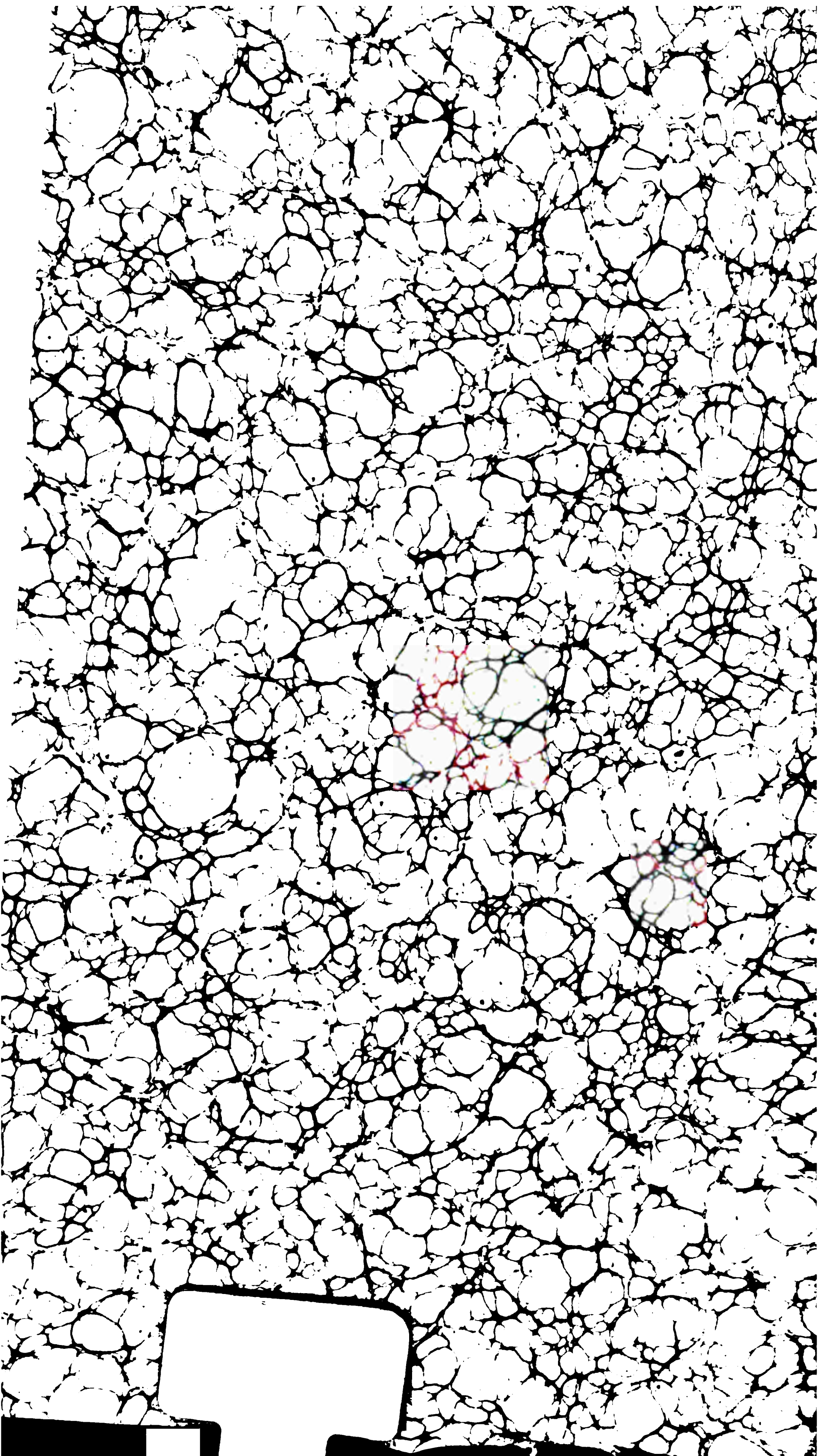
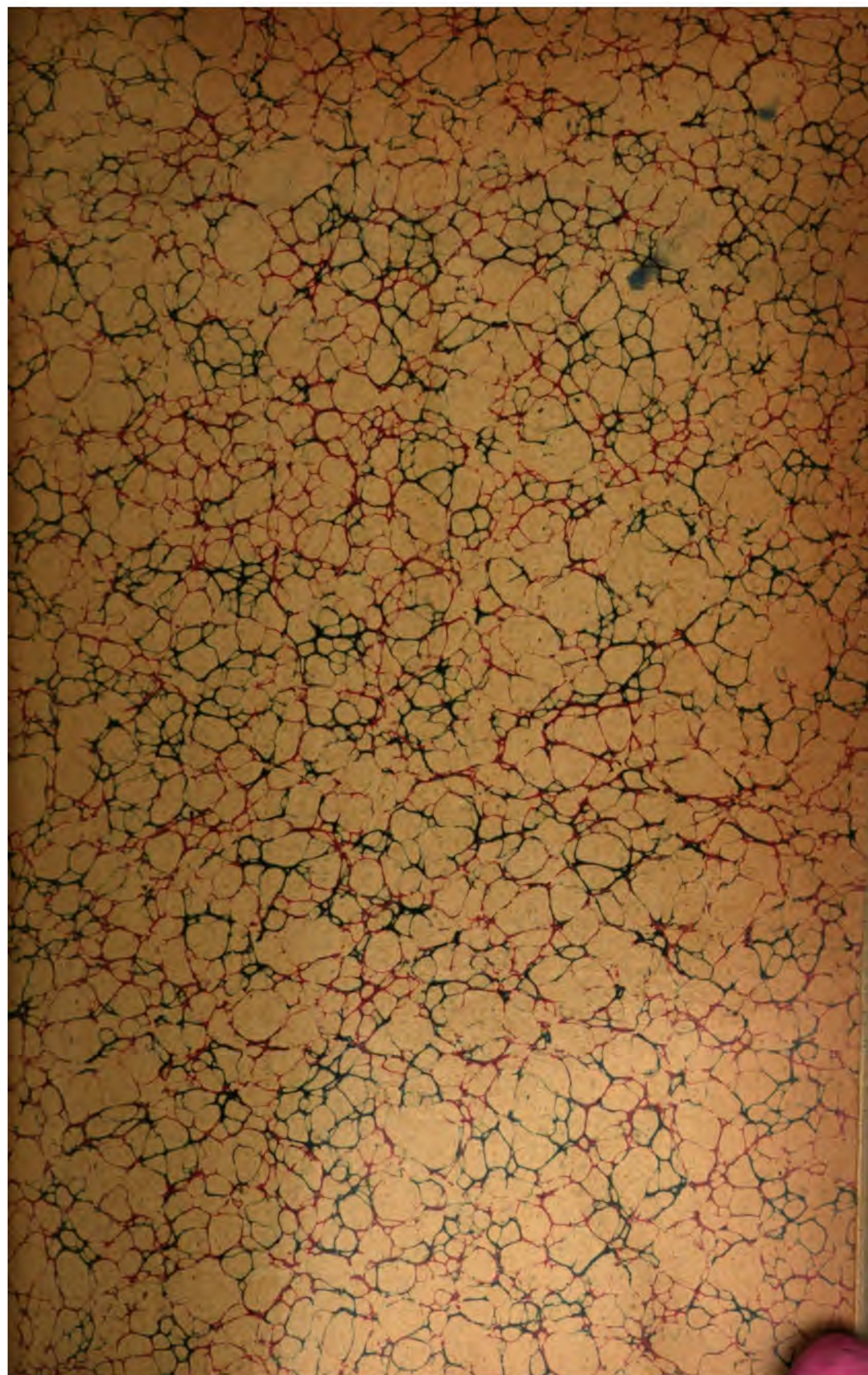










ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

PUBBLICATO DA

G. BIZZOZERO (Torino) — C. BOZZOLO (Torino) — P. FOÀ (Torino)
C. GOLGI (Pavia) — L. GRIFFINI (Genova)
N. MANFREDI (Pisa) — E. MARCHIAFAVA (Roma) — A. MOSSO (Torino)
L. PAGLIANI (Torino) — E. PERRONCITO (Torino) — E. SERTOLI (Milano)
C. TARUFFI (Bologna) — G. TIZZONI (Bologna)

E DIRETTO DA

G. BIZZOZERO

VOLUME VENTESIMOQUARTO

CON 14 TAVOLE E 1 INCISIONE



TORINO
CARLO CLAUSEN
—
1900.

Torino — VINCENZO BONA, Tip. di S. M.

INDICE

delle materie contenute nel presente volume.

MEMORIE ORIGINALI

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 1.

Laboratorio di Farmacologia della R. Università di Bologna.
(Direttore Ivo Novi)

Dott. **Angelo PUGLIESE**
Privato Docente di Fisiologia
e Assistente al Laboratorio.

Dott. **Tullio LUZZATTI**
Assistente onorario alla Clinica Medica generale.

CONTRIBUTO

ALLA

FISIOLOGIA DELLA MILZA

AVVERTENZA

Le tavole I e II, annesse ai lavori di V. Grandis *e* C. Mainini, *saranno pubblicate nel prossimo fascicolo.*

milza le pagine più belle che oggidì possediamo.

Però chi imprende a passare in rassegna l'innumerevole serie di lavori fatti, non può a meno di notare che la milza fu studiata principalmente dal lato istologico, quale organo ematopoietico, e che si ricercò quasi esclusivamente la parte che prende alla formazione del sangue. Ma uno studio sulla funzione della milza in rapporto a quella di altri organi manca in gran parte. Qui ricorre subito alla mente la teoria

di Schiff, che già nel 1862 sostenne che la milza ha una parte preponderante nell'elaborazione del fermento proteolitico del pancreas. Questa teoria difesa strenuamente da Herzen (1), fu rimessa in onore recentemente da Gachet (2) e da Gachet e Pachon, i quali conchiusero dalle loro esperienze che nella milza si ha una secrezione interna a funzione pancreatogena. Questi risultati di Pachon e Gachet, oltrechè abbisognano di conferma non essendo abbastanza convincente il loro metodo di esperimento, non hanno alcun punto di contatto con quelli, ai quali noi siamo giunti nelle ricerche che facciamo argomento di questa memoria.

Presenta invece per noi grandissimo interesse la breve nota che il prof. Banti pubblicò nel 1895 sulla parte che la milza prende nelle itterizie pleiocromiche (3). Ma il chiaro anatomopatologo di Firenze, come anche gentilmente volle comunicare a uno di noi, osservò il fatto senza però spingersi oltre nell'analisi e essenza del fenomeno.

Nella prima parte dello studio compiuto che intendiamo di fare sulla fisiologia della milza, noi abbiamo appunto ricercato se la funzione della milza fosse intimamente legata a quella del fegato (4). Vi ci fummo indotti, perchè esperienze che uno di noi intraprese sugli animali smilzati nel laboratorio di Hertwig in Berlino, avevano messo in luce certi fatti, che davano molta speranza che questo studio avrebbe condotto a conclusioni forse non senza importanza sì dal lato teorico che dal pratico.

E a spingerci sempre più in questa via concorsero pure le cognizioni che oggidì noi possediamo sulla milza quale or-

---

(1) Herzen, *Revue générale de sciences pures et appliquées*, 1895.

(2) Gachet, Thèse de Bordeaux, 1897.

Gachet et Pachon, *Arch. de Physiologie normale et patholog.*, vol. X, serie V, 1898, pag. 363.

(3) Banti, *Gazzetta degli Ospedali*, anno XVI, n. 47, 1895, pag. 489.

(4) Dobbiamo confessare che quando abbiamo iniziato questo studio non conoscevamo l'interessante nota del Banti, quantunque ci fossimo in parte attenuti allo stesso metodo d'esperimento.

gano emocitolitico (specialmente, come crediamo noi, quale organo accumulatore di pigmento sanguigno), e sul legame genetico fra sostanza colorante del sangue e pigmenti biliari. Nè possiamo qui passare sotto silenzio, come il **Mya** (1), con quella competenza che tutti gli riconoscono, nel riassumere i suoi studii sull' avvelenamento da pirodina, osservi che in detto avvelenamento il detrito pigmentario si accumula rapidamente e con abbondanza nella milza, dove incomincia già le fasi delle sue trasformazioni; che **Malinin** (2) dichiara esplicitamente che la milza ingloba e trasforma nei principii costitutivi della bile gli elementi morti del sangue, e che infine **Tedeschi** (3) avrebbe trovato una maggior quantità di ferro negli organi degli animali smilzati, e segnatamente nel midollo osseo e nel fegato.

Per lo studio sperimentale della funzione della milza in rapporto a quella del fegato due vie ci si paravano dinanzi, la *diretta* e l'*indiretta*.

α) In cani con fistola biliare completa studiare le eventuali modificazioni nella quantità e composizione della bile in seguito allo smilzamento. Questa ricerca fu già eseguita da uno di noi e i risultati resi di pubblica ragione (4).

β) A cani normali e smilzati somministrare veleni ematici e ricercare negli escreti, orine e feci, l'esponente della distruzione globulare consecutiva all'avvelenamento (pigmenti biliari, urobilina, stercobilina, ecc.). Questo secondo modo d'esperimentare, che fu seguito primieramente dal **Banti**, ci fornì

---

(1) **Mya**, *Arch. ital. de Biologie*, vol. XVI, 1891 e *Lo Sperimentale*, 31 maggio 1891.

(2) **Malinin**, citato a pag. 38 del lavoro del dott. **Michelozzi**, « Contributo allo studio della fisiopatologia della milza », Pisa, 1898.

(3) **Tedeschi A.**, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XXIV.

(4) **A. Pugliese**, *Arch. f. Anatomie und Physiologie-Phys.* Abtheil. 1899, e *Policlinico*, vol. VI-M, 1899.

una serie di risultati importanti che verremo man mano esponendo (1).

Mya (2) e il suo allievo **Poletti** (3) diedero la dimostrazione esauriente che l'anemia da distruzione globulare viene riparata nello stesso e identico modo che quella da salasso, quantunque l'organismo debba anche trasformare ed eliminare il materiale risultante dallo sfacelo globulare.

Al **Mya** siamo pure debitori, come già si disse, dell'osservazione importantissima, che il tumore di milza, che si ha nell'avvelenamento per pirodina, è dovuto all'accumulo rapido di detrito pigmentario, il quale incomincia forse già nella milza le fasi della sua trasformazione.

D'altra parte, per merito specialmente di **Stadelmann** (4), noi sappiamo che i veleni distruttori dei globuli rossi rendono pure la bile più ricca in sostanza colorante. La bile, fatta inoltre più densa, scola male o punto attraverso i canalicoli biliari, si riassorbe, e si ha così passaggio degli elementi della bile nelle orine e nei casi più gravi anche ittero.

Le cose avvengono nello stesso modo negli animali smilzati? In verità sappiamo ben poco a questo riguardo. Il **Banti** (5) dice che i cani smilzati sopportano senza gravi danni dosi di acetilfenilidrazina o di toluilendiamina che nei cani non splenectomizzati riuscirebbero sicuramente mortali. Soggiunge che le dosi consuete di veleno che nei cani normali valgono a produrre in modo certo l'itterizia, rimangono senza effetto nei cani privati della milza. Le orine non con-

---

(1) Cause indipendenti dalla nostra volontà, e sopratutto la necessità di chiarire qualche punto ancora dubbio, hanno permesso solo ora la presente pubblicazione, che avrebbe dovuto precedere quella sulla composizione della bile negli animali smilzati.

(2) **Mya**, lav. citato.

(3) **Poletti**, *Atti della R. Accad. dei Fisiocritici in Siena*, serie IV, vol. III, 1891.

(4) **Stadelmann**, « Der Icterus », Stuttgart, 1891.

(5) **Banti**, lav. citato.

tengono traccie di bilirubina per quanto la presenza di albumina dimostri l'avvenuto assorbimento del veleno. Con dosi triple si osserva un'itterizia di solito più debole e fugace di quella prodotta nei cani non smilzati con le dosi ordinarie. Il Banti spiega questi risultati, ammettendo che coll'estirpazione della milza si venga a togliere l'organo principale dell'ematolisi, e che la sua mancanza renda più difficile e scarsa la distruzione dei globuli, anche perchè questi diventano più resistenti come di certo ha dimostrato il Bottazzi (1). Per tal modo il fegato non ricevendo in eccesso il pigmento sanguigno non fabbrica in eccesso la bile, e l'itterizia pleiocromica non ha luogo di prodursi.

Ma che la distruzione globulare sia difficoltata dalla mancanza della milza non risulterebbe dalle ricerche che i dottori De Luca e Gatta (2) compirono nella Clinica del De Renzi in Napoli: Questi autori avrebbero visto che la pirodina, glicerina e toluilendiamina generano nei cani splenectomizzati diminuzione rilevantissima dell'emoglobina e dei globuli rossi e emoglobinuria. La toluilendiamina darebbe itterizia intensa anche nei cani senza milza. Ma i loro animali erano in pessime condizioni d'esperienza. Avevano sangue povero in globuli rossi e emoglobina già prima di essere avvelenati, furono operati di splenectomia quando non si erano ancora rimessi dall'avvelenamento precedente, e riebbero la sostanza tossica a troppa breve distanza dall'estirpazione della milza. Non fa quindi meraviglia che a questi AA. sia sfuggita l'osservazione così importante del Banti, che essi neppure citano.

Qui è riassunta la letteratura sull'azione dei veleni ematici sugli animali splenectomizzati: Almeno non sono venuti a nostra cognizione altri lavori per quanto abbiamo a lungo e minutamente cercato. Essa è invero poca cosa e di più, come si vede, con apparenti contraddizioni.

(1) Bottazzi, *Lo Sperimentale*, 1894, pag. 433.

(2) De Luca e Gatta, *Rivista clinica e terapeutica*, anno XXI, n. 11, 1897.

Praticammo le nostre esperienze esclusivamente sui cani, gli unici animali che per la mole, la resistenza organica e la facilità di raccogliere gli escreti si prestino bene, a nostro avviso, per questo genere di ricerche. Quali veleni ematici usammo la toluilendiamina e sopratutto la pirodina. Come ben dice il Mya, si può quasi graduare la somministrazione della pirodina, in modo da ottenere il grado di oligocitemia che si desidera.

Abbiamo pure tentato in qualche caso l'iniezione di acqua stillata nelle vene, ma con nostra meraviglia abbiamo trovato che i cani sono resistentissimi a tale iniezione, e che la stessa introduzione di 30 cm^3. di acqua stillata per Kgr. d'animale ha un'azione leggiera e fugace (1).

In molte esperienze si sperimentò nel seguente modo: Un cane normale, ben portante, venne avvelenato con dosi ripetute di veleno ematico fino ad aversi oligocitemia notevole, bilirubinuria o emoglobinuria. Lasciato quindi ritornare l'animale nelle condizioni primitive si passò alla splenectomia. Quest'operazione, com'è noto, è così semplice e innocua che quasi sempre i cani assumevano la loro solita razione giornaliera già il giorno successivo all'atto operatorio. In un periodo di tempo più o meno lontano dalla estirpazione della milza, si ritornò ad avvelenare il cane fino ad aversi un'anemia intensissima.

L'importanza di questo procedimento sorge spontaneamente dall'osservazione fatta dal Mya che non solo animali di specie differenti, ma eziandio animali della stessa specie presentano resistenza diversa, p. e., alla pirodina.

In altri casi non ci servimmo dello stesso animale per studiare il rapporto fra milza e veleni ematici. Ad un cane con milza propinammo una dose unica mortale o dosi ripetute di veleno. L'animale venne a morte spontaneamente, o lo uccidemmo, a scopo di ricerche speciali, a un certo stadio del-

(1) Questo argomento è presentemente oggetto di studio nel Laboratorio di Farmacologia di Bologna.

l'avvelenamento. Lo stesso processo applicammo a cani splenectomizzati, e ne comparammo poscia i risultati.

Le nostre ricerche furono di triplice ordine — ematologiche — chimiche — istologiche. Il sangue e il midollo osseo furono in particolar modo studiati istologicamente. I risultati saranno riferiti nel corso del lavoro man mano che se ne presenterà l'occasione.

α) *Ricerche ematologiche.*

L'esame del sangue versò sulla sua ricchezza in globuli rossi e bianchi, sul suo contenuto in emoglobinà e sulla resistenza dei globuli rossi. Il conteggio dei globuli fu fatto coll'apparecchio di Thoma-Zeiss. Per i globuli bianchi ci servimmo di una soluzione di acido acetico al $^1/_2$ $^0/_0$, aggiungendo al liquido tante goccie di una soluzione satura di metil-violetto da dare al liquido una tinta violetta non troppo marcata.

Così oltre a rendere più facile il conteggio dei globuli bianchi, potemmo farci subito un'idea delle varie forme dei leucociti e delle modificazioni che subivano nelle varie fasi dell'esperimento. Ma a questo scopo corrispose meglio l'esame dei preparati a secco del sangue. La loro colorazione avvenne colla miscela triacida di Ehrlich e specialmente colla doppia colorazione di ematossilina e eosina.

Così non solo potemmo seguire le modificazioni nel diametro e forma del nucleo, ma scoprire pure l'esistenza di speciali granulazioni e quella, per noi più importante, di globuli rossi nucleati.

Consapevoli poi dell'importanza che specialmente dalla scuola del Murri si attribuisce a quelle forme di globuli rossi che si colorano totalmente o parzialmente col bleu di metilene, forme che appaiono solamente nella clorosi e nelle anemie sperimentali gravi (1), abbiamo eseguito anche questa ricerca,

---

(1) G. Poggi, *Policlinico*, vol. V, M, 1898.

attenendoci a quelle norme che l'amico Dott. Poggi volle verbalmente consigliarci.

La resistenza del sangue fu determinata col metodo oramai classico del Mosso, attenendoci alle denominazioni introdotte dal Bottazzi (1). Preparammo, cioè, una serie di soluzione di NaCl che andava dal 0,26 al 0,70 °/₀. Ogni soluzione conteneva gr. 0,02 °/₀ in più di cloruro di sodio di quella che subito la precedeva, e gr. 0,02 in meno della soluzione che veniva subito dopo. 5 cm^3 di ogni soluzione venivano versati in tubettini della stessa capacità e diametro e perfettamente asciugati alla stufa. In ogni tubetto si lasciavano cadere due goccie di sangue, che si aspirava dalla piccola safena mediante una siringa di Pravaz unta previamente con olio di vaselina. Con un po' di pratica si riesce ad aspirare il sangue e trasportarlo nei tubettini in un tempo brevissimo, senza bisogno di legare il cane o di mettere un laccio alla radice dell'arto per ingrossare la vena. Togliemmo così tutte quelle cause d'errore che potevano verificarsi o per l'eccitamento dell'animale, o per il ristagno del sangue nella vena. Agitati dolcemente i tubettini si lasciarono a sè per dodici ore, curando che le condizioni dell'ambiente non variassero che di poco. Determinammo così la resistenza *massima* e *minima* dei globuli rossi. Non ci limitammo però a determinare macroscopicamente in quale soluzione di Na Cl si incominciava a notare il sedimento, ma ci assicurammo ancora microscopicamente in quale tubetto si incominciava a trovare un numero sufficiente di globuli rossi non alterati. Ci affrettiamo a dire che abbiamo avuto per lo più accordo fra esame macroscopico e microscopico, cioè, là dove si vedeva un sedimento palese, si trovavano pure molti globuli rossi abbastanza conservati.

Infine dobbiamo ricordare che praticammo un salasso dalla giugulare in alcuni di quei casi, in cui l'animale sotto l'azione del veleno presentò sangue nelle orine.

---

(1) Bottazzi, *Lo Sperimentale*, pag. 192, 1894.

Dalla colorazione del siero separatosi nella coagulazione, potemmo così riconoscere se si trattava di vera emoglobinemia, oppure di passaggio di sangue attraverso i glomeruli renali alterati.

ESPERIENZE CON PIRODINA.

Abbiamo anzitutto determinato in cani non splenectomizzati la dose tossica media di pirodina.

Abbiamo dato la sostanza per bocca o per iniezione sottocutanea, e abbiamo visto che già alla dose di gr. 0,034-0,05 per Kgr. d'animale produce la nota sindrome caratterizzata da disappetenza, vomito, depressione, oligocitemia, orine con sangue o coi prodotti risultanti dall'emolisi intensa, consecutiva alla somministrazione del veleno.

Non riportiamo le esperienze fatte, perchè poco o nulla aggiungerebbero a quanto già si conosce sugli effetti che la pirodina produce nel cane.

Stabilita così approssimativamente la dose di pirodina velenosa per il cane, passiamo a vedere come si comporti la crasi sanguigna sotto l'azione della pirodina nei cani senza milza.

La parte che riguarda l'eliminazione delle sostanze provenienti dalla distruzione globulare sarà trattata nel capitolo successivo.

Animali smilzati.

Esperienza I.

Cagnina robusta, adulta, tenuta a dieta costante.

Data	Peso	Dose di pirodina somministrata	Emometria	Globuli rossi per mm³	Globuli bianchi per mm³	Osservazioni
9 febbraio	Kgr. 3,8		98	6.900.000	10.000	Si estirpa la milza alle ore 14.
23 »		gr. 0,04 per os	90	6.240.000	12.800	
24 »	» 3,7	» 0,04 »				
25 »		» 0,06 »	80	5.140.000	15.000	
26 »	» 3,8	» 0,06 »	55	3.700.000		
28 »	» 3,9	» 0,06 »	35	2.090.000	42.000	
2 marzo	» 3,8		35	2.000.000	38.560	Molti globuli rossi nucleati e molte forme del Poggi. Fra i globuli bianchi predominano i polinucleati. La cagna è sempre stata bene.
5 »	» 4,2		40	2.540.000	28.160	
9 »		» 0,06 »	45	3.100.000	13.600	La cagna continua a star bene.
		In toto gr. 0,32 = gr. 0,08 per kgr. di cane				

13 »			35	2.424.000	24.000	Numerosissimi eritrociti nucleati e numerose forme del Poggi; fra i leucociti molte forme a nucleo lobato.
17 »		gr. 0,10 sotto cute	35	2.000.000	22.000	
19 »	» 4,0	» 0,10 »	30	1.812.000	32.000	
21 »		» 0,10 »	30	1.800.000	24.000	
23 »		» 0,10 »	30	1.800.000	28.000	Come sopra.
24 »			30	2.000.000		
25 »	» 4,0	» 0,10 » In toto gr. 0,5 = gr. 0,125 per kgr. in peso	30	1.880.000	28.860	Reperto del sangue come sopra. La cagna sta bene; mucose visibili pallidissime.
26 »	» 3,9		30	2.020.000	26.230	La cagna sta bene. Molti microciti, numerosi eritrociti nucleati, molte forme del Poggi, molti leucociti della varietà grande con nucleo polimorfo.
30 »	» 4,1		45	2.960.000	16.520	
20 aprile	» 4,2		55	4.080.000	12.000	Scomparsi dal sangue i globuli rossi nucleati e le forme del Poggi. Qualche raro leucocito a nucleo lobato.

Esperienza II.

Cane piuttosto giovine, molto robusto, tenuto a dieta costante.

Data	Peso	Dose di pirodina somministrata	Emometria	Globuli rossi per mm³	Globuli bianchi per mm³	Osservazioni
11 marzo	Kgr. 7,3		105	8.000.000	9.500	
12 »		gr. 0,07 per os				
13 »		» 0,07 »				
14 »		» 0,07 »	85	6.060.000	13.600	Non mangia col solito appetito.
15 »	» 7,1		75	5.800.000	16.800	Meno festoso; non consumò tutta la razione.
17 »		» 0,07 »	65	4.960.000	13.000	Il cane è depresso; mangia poco.
18 »	» 6,5	» 0,07 »	55	4.180.000	12.500	Sempre più abbattuto; non mangia.
		In toto gr. 0,35 = gr. 0,05 per kgr. in peso				
21 »	» 6,2		42	3.024.000	23.400	Sta male, ha vomito, estremamente anemico, corpuscoli rossi deformati; nel sangue circolante molte forme del Poggi e qualche raro globulo nucleato; fra i leucociti prevale la varietà grande a nucleo polimorfo.
13 aprile	» 7,2		95	7.900.000	7.200	Condizioni generali ottime.

16 »	» 6,9		[illegible]	[illegible]	[illegible]	
26 »			90	7.600.000	12.000	Fra i leucociti ve ne hanno molti a nucleo lobato. Ve ne sono pure parecchi piccoli a nucleo centrale unico.
27 »		gr. 0,07 per os	90	7.520.000	12.680	
28 »		» 0,07 »				
29 »	» 7,1	» 0,07 »	85	5.920.000	16.000	
1° maggio			70	4.500.000	16.000	
2 »	» 7,3	» 0,07 »	55	3.880.000	19.400	
5 »			45	3.760.000	18.400	
6 »	» 7,4	» 0,07 »	45	3.582.000	20.000	
7 »		» 0,07 »	40	3.576.000	17.200	Numerosissimi globuli rossi nucleati e molte forme del Poggi. Leucociti di tutte le forme e dimensioni; il cane sta benissimo.
		In toto gr. 0,42 = gr. 0,06 per kgr. di cane				
9 »		gr. 0,14 per iniez.	40	3.100.000	17.920	Si dà il veleno per iniezione sottocutanea, nel dubbio che per la via dello stomaco non venisse in parte assorbito.
11 »	» 7,5	» 0,20 »	40	3.029.000	16.480	
13 »		» 0,20 »	40	3.240.009	14.400	Sempre numerosi i globuli rossi nucleati, ecc.
15 »	» 7,5	» 0,20 »	40	3.264.000	12.400	
18 »	» 7,5	» 0,20 »	38	3.060.000	15.000	Il cane sta sempre bene. Reperto del sangue come sopra.
20 »		In toto gr. 0,94 = gr. 0,125 per kgr. d'animale	35	2.872.000	16.430	
12 giugno	» 7,4		80	6.820.000	6.480	

Esperienza III.

Cagnetta giovine, robusta, ben nutrita; tenuta a dieta costante.

Data	Peso	Dose di pirodina somministrata	Emo-metria	Globuli rossi per mm³	Globuli bianchi per mm³	Osservazioni
20 aprile	Kgr. 6,5		100	7.280.000	8.000	
22 »		gr. 0,07 per iniez.	100	7.310.000	7.240	
23 »		» 0,07 »				
24 »			84	5.980.000	12.000	La cagna mangia con appetito, è festosa.
25 »		» 0,08 »				
26 »	» 5,8		60	3.870.000	22.500	Ha vomito, è abbattuta, rifiuta il cibo. Anemica, corpuscoli deformati in gran numero; molte forme del Poggi; fra i leucociti predominano le forme polinucleate.
27 »	» 5,6	» 0,08 »				Sta male.
28 »	» 5,5	In toto gr. 0,30 = gr. 0,046 per kgr. di cane	35	2.820.000	34.000	Continuano i sintomi morbosi; mucose pallidissime. Fra i leucociti vi hanno molte forme a nucleo lobato e molti leucociti piccoli con un solo nucleo centrale. Qualche raro globulo rosso nucleato nel sangue circolante.
26 maggio	» 6,4		95	6.800.000	8.000	La cagna sta ottimamente.

[illegible] maggio	» [illegible]		[illegible]	[illegible]	[illegible]	
15 giugno	» 6,8	gr. 0,240 per iniez.	98	6.890.000	9.600	
16 »		» 0,240 »				
17 »			70	5.360.000	9.600	Sta bene, è festosa, mangia volentieri.
18 »		» 0,240 »				
19 »	» 6,8		55	4.200.000	18.400	Id. id.
21 »	» 6,75	» 0,240 »	35	3.040.000	24.000	Nel sangue circolante molti eritrociti nucleati e molte forme del Poggi. La cagna sta bene, le mucose visibili sono pallidissime.
23 »	» 6,82	» 0,240 » — In tutto gr. 1,2 = gr. 0,176 per kgr. di cane	28	2.508.000	52.000	Numerosissimi globuli rossi nucleati e molte forme del Poggi. La cagna sta bene.
24 »	» 6,70		25	2.240.000	48.000	La cagna sta ottimamente; consuma sempre tutta la sua razione.
27 »			30	2.540.000	45.000	
9 luglio	» 7,20		55	4.000.000	15.000	
26 »	» 7,3	gr. 0,5 pirodina sotto cute	80	5.280.000	7.000	
28 »				4.200.000	32.000	Sangue color lacca che coagula celeramente, tanto che non si può determinare il valore emoglobinico; è abbattuta, non mangia.
29 »	» 6,4			4.000.000		Come sopra; sta male.
2 agosto	» 6	» 0,5 » »		3.090.000	75.000	Id. Id.
3 »	» 5,4			2.600.000	80.000	Ha vomito continuo; sta malissimo.

Muore nella notte dal 3 al 4 agosto.

Pertanto subito dopo la splenectomia *diminuirono i globuli rossi e l'emoglobina, e crebbero i globuli bianchi.*

Questo risultato non è che una riconferma di quanto osservarono già molti altri sperimentatori (Mosler, Schindeler, Malassez, Winogradow, Vulpius, Laudenbach, Michelozzi).

Ma ciò che specialmente interessa a noi, si è che il sangue subì una *distruzione notevolissima* in seguito alla somministrazione della pirodina *anche dopo la splenectomia.* Nell'esperienza prima l'emoglobina scese da 98 a 30; i globuli rossi da 6.900.000 a 1.800.000: nell'esperienza seconda l'emoglobina scemò da 90 a 35 e i globuli rossi da 7.600.000 a 2.872.000; nell'esperienza terza l'Hb da 98 si abbassò a 25 e i globuli rossi da 6.890.000 a 2.240.000. Si potrebbe obbiettare che dopo la splenectomia furono somministrate dosi molto forti di pirodina; ma l'esperienza seconda sta contro quest'obbiezione. Al cane smilzato si diede appositamente il veleno a dosi rifratte, e si ottenne lo stesso grado di deglobulizzazione o quasi, per una quantità di pirodina di poco superiore a quella che il cane ebbe quando era normale (21 marzo, 9 maggio).

Pertanto possiamo conchiudere con De Luca e Gatta (1) che la pirodina produce anche nei *cani splenectomizzati una diminuzione rilevantissima della quantità d'emoglobina e del numero dei globuli rossi.*

Ma mentre i cani normali reagirono intensamente al veleno, appena la distruzione del sangue fu considerevole, negli stessi cani smilzati non si notarono fenomeni morbosi d'entità anche dopo dosi elevatissime di veleno, se si accettua l'estrema pallidezza delle mucose visibili, la quale era appunto in rapporto con l'intensa deglobulizzazione.

Adunque i cani senza milza *presentarono una tolleranza straordinaria al veleno ematico;* malgrado l'intensa distruzione sanguigna; della quale (come vedremo nel prossimo ca-

(1) De Luca e Gatta, lavoro cit.

pitolo), mancò, o quasi, l'indice nelle orine dei cani splenectomizzati. Dall'esperienza II si vede che per avere effetti tossici mortali si dovette somministrare a un piccolo cane di circa 7 Kgr. due dosi di pirodina di mezzo gr. l'una, una dose così straordinariamente alta che i fenomeni d'intossicazione generale dovevano necessariamente prendere il sopravvento.

Non ci sembra quindi azzardata l'asserzione di uno di noi (1), che gli esiti gravi che generano nei cani non smilzati i veleni che dissolvono il globulo rosso, non sono da attribuirsi, almeno per la massima parte, nè alla grave deglobulizzazione, nè al veleno, quando, ben s'intende, la sostanza non sia data in dose tale che vengano a prevalere i fenomeni d'intossicazione generale.

Dalle esperienze riferite appare inoltre un altro fatto interessantissimo.

Nei cani smilzati la pirodina generò bensì, come si è visto, una distruzione intensa del sangue, ma appena la deglobulizzazione raggiunse un certo limite, *le dosi successive di veleno rimasero senz'effetto, o questo fu assai scarso.* Così l'Hb si abbassò mai al di sotto di 30 nella prima esperienza, di 35 nella seconda, di 25 nella terza. E corrispondentemente gli eritrociti non scesero oltre 1.800.000 nella prima esperienza, 2.800.000 nella seconda, 2.200.000 nella terza.

Battistini e Rovere (2) si occuparono diffusamente dell'anemia da pirodina tanto nell'avvelenamento acuto che cronico. Essi distinguono nell'avvelenamento acuto un primo periodo di rapida distruzione, a cui succede un secondo di emolisi meno grave perchè persistono solo le forme più resistenti dei corpuscoli, ciò nulla meno molto alterati. Come fatto costante nell'ultimo periodo di avvelenamento vi ha una sosta od almeno un rallentamento nella distruzione dei globuli rossi. Nelle forme di avvelenamento cronico dopo un certo periodo di tempo si manifesta pure un'emolisi rapida, a cui

(1) A. Pugliese, lav. cit.

(2) Battistini e Rovere, *Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino*, anno LX, pag. 385, 1897.

fa seguito un rallentamento nel processo di distruzione del sangue, finchè nell'ultimo periodo dell'avvelenamento si ha di nuovo un'emolisi rapida.

Per le dosi di veleno che impiegammo, non vi ha dubbio che nelle nostre esperienze si trattò di avvelenamento acuto. Nei cani smilzati vedemmo noi pure succedere a un primo periodo di celere distruzione sanguigna, un secondo di emolisi meno grave, e infine una vera sospensione nel calo dell'emoglobina e dei globuli rossi. Nondimeno non si ottennero da parte dei cani avvelenati fatti morbosi gravi; mentre quando nei cani con la milza spingemmo l'avvelenamento al di là del limite riportato nelle tabelle, essi vennero inesorabilmente a morte con tutti i sintomi di un'anemia gravissima, incompatibile colla vita.

Nelle nostre esperienze abbiamo inoltre sempre visto diminuire la resistenza del sangue per effetto dei veleni ematici tanto nei cani normali che splenectomizzati. Vast (1), studiando contemporaneamente a noi l'azione della toluilendiamina sui globuli rossi, venne alla stessa conclusione.

Non ci pare quindi che si possa generalizzare l'asserto di Battistini e Rovere, che nei periodi avanzati dell'intossicazione per pirodina i globuli rossi presentino una maggiore resistenza. Nel cane, almeno, questo non si conferma sempre, e non è quindi possibile collegare la mancata azione della pirodina nei cani smilzati a un certo stadio dell'avvelenamento con un'aumentata resistenza del sangue, tanto più che non ci potremmo spiegare in questo modo, perchè gli effetti del veleno perdurarono nei cani con la milza.

Bottazzi (2) trovò aumentata nel cane la resistenza dei globuli rossi in seguito alla splenectomia. Ci sorse perciò il dubbio che lo speciale decorso dell'intossicazione da pirodina nei cani splenectomizzati potesse dipendere da questa modificazione nell'isotonia del sangue.

---

(1) A. Vast, « Action de la toluylène-diamine sur les globules rouges ». Contribution à l'étude de l'hématolyse, Paris, 1899.

(2) Bottazzi, lavoro cit.

Anzitutto si è già visto che la resistenza del sangue diminuisce nei cani avvelenati con veleni ematici siano o no splenectomizzati, per cui volendo pure ammettere come dimostrato che la resistenza dei globuli rossi cresce nei cani smilzati, quando noi avessimo addotto questo fatto a spiegazione dei nostri risultati, saremmo venuti alla conclusione assurda, che la pirodina non era più capace di produrre distruzione globulare allora appunto che la resistenza del sangue era diminuita per l'azione stessa del veleno. Ma v'ha di più. Noi possiamo affermare che la *resistenza del sangue non subisce nei cani modificazioni sensibili in seguito alla splenectomia.*

Raggrupperemo in un piccolo quadro i risultati delle nostre esperienze.

Esperienza I.

Canina ben nutrita, robusta, del peso di 6 Kgr.

Avanti la splenectomia.		Dopo la splenectomia (operata il 30 marzo).	
28 marzo	Resist. massima 0,36-0,38 » minima 0,46-0,48	13 aprile	Resist. massima 0,36-0,38 » minima 0,44-0,46
		12 giugno	Resist. massima 0,36-0,38 » minima 0,48.

Esperienza II.

Cane giovine robusto, pesa 7 Kgr.

Avanti la splenectomia.		Dopo la splenectomia (operato il 13 aprile).	
2 aprile	Resistenza massima 0,36 » minima 0,44	16 aprile	Resistenza massima 0,38 » minima 0,46
13 aprile	Resist. massima 0,36-0,38 » minima 0,44	22 aprile	Resist. massima 0,36 » minima 0,44-0,46
		1° giugno	Resistenza massima 0,36 » minima 0,44
		17 giugno	Resist. massima 0,34-0,36 » minima 0,42-0,44.

Esperienza III.

Cane adulto, robusto, del peso di 14 Kgr.

Avanti la splenectomia.		Dopo la splenectomia (operato il 5 agosto)	
7 aprile	Resistenza massima 0,38	29 agosto	Resist. massima 0,38-0,40
	» minima 0,48		» minima 0,50-0,52
3 maggio	Resistenza massima 0,38	5 novemb.	Resistenza massima 0,38
	» minima 0,48		» minima 0,48-0,50.
5 agosto	Resistenza massima 0,38		
	» minima 0,48		

Esperienza IV.

Cane giovine del peso di 16 Kgr.

Avanti la splenectomia.		Dopo la splenectomia (operato il 24 luglio).	
23 luglio	Resist. massima 0,38-0,40	20 agosto	Resist. massima 0,38-0,40
	» minima 0,52-0,54		» minima 0,52-0,54
		27 agosto	Resist. massima 0,38-0,40
			» minima 0,52-0,54
		2 settemb.	Resist. massima 0,40
			» minima 0,50-0,52.

Dobbiamo fare rilevare, come Bottazzi esperimentò quasi esclusivamente su cagnetti di pochi mesi d'età. Forse risiede qui la spiegazione della discrepanza fra i risultati suoi e i nostri. È senza dubbio degno di studio il quesito se la resistenza del sangue cresca coll'età. Noi trovammo in 4 cagnolini colle palpebre ancora chiuse rilevantemente più bassa la resistenza minima, come si può vedere dalla seguente tabella.

Esperienza I. — Cagnolino del peso di 250 gr.
Resistenza massima 0,38
» minima 0,68-

Esperienza II. — Cagnolino del peso di 250 gr.
Resistenza massima 0,38
» minima 0,66-0,68.

ESPERIENZA III. — Cagnolino del peso di 270 gr.
Resistenza massima 0,38
» minima 0,68.

ESPERIENZA IV. — Cagnolino del peso di 400 gr.
Resistenza massima 0,38
» minima 0,68.

Bottazzi trovò però aumentata la resistenza dei globuli rossi dopo la splenectomia anche in una cagna vecchia. Ma a parte che si tratta di una sola esperienza, devesi notare che l'animale morì di peritonite saccata, e che la resistenza del sangue crebbe malgrado che la cagna fosse estremamente debole e in preda a suppurazione interna!!

Noi non solleviamo certo alcun dubbio su questo risultato di Bottazzi, ma dobbiamo però negare ogni forza probatoria ad un'esperienza eseguita in condizioni così diverse dal normale! (1).

A quale causa è adunque dovuta la mancata azione della pirodina nei cani smilzati ad un certo punto dell'avvelenamento?

Molti osservatori ammettono l'esistenza di diverse specie di globuli rossi, e altri (2) suppongono che vi siano varie sorta di emoglobina più o meno aderenti allo stroma globulare. Bohr (3) diede base scientifica a questo concetto, dimostrando l'esistenza di 4 specie di emoglobina, le quali contengono quantità diversa di ossigeno e di ferro, hanno diverso potere assorbente per la luce e diverso peso molecolare. Non possiamo quindi escludere senz'altro, che l'estirpazione

(1) Domenici in una brevissima nota pubblicata nella *Gazzetta degli ospedali* (1895, n. 61, pag. 643) dice di avere trovata aumentata la resistenza del sangue nei conigli senza milza. Non conoscendo in quali condizioni abbia esperimentato questo autore, e non avendo noi fatto alcuna esperienza sui conigli, ci riserbiamo ogni giudizio sui risultati di Domenici.

(2) Gallerani, *Annali di Chimica e Farmacologia*, vol. XV, serie IV, 1892, pag. 141.

(3) Bohr, « Maly's Jahresberichte », vol. XX, 1890, pag. 94; e vol. XXI, 1891, pag. 72-74.

della milza già di per sè modifichi l'ematopoiesi, nel senso che vengano a scomparire alcune specie di globuli rossi o di emoglobina, e che la pirodina completi gli effetti della splenectomia, lasciando sussistere solo quei globuli rossi che avendo forse l'Hb più aderente allo stroma sono più difficilmente intaccabili dal veleno ematico.

Però da una parte questa spiegazione poggia su troppe considerazioni teoriche, le quali hanno bisogno alla loro volta del conforto dell'esperienza, e dall'altra non scioglie punto il nodo della questione, perchè gli effetti della pirodina siano diversi nel cane a seconda che esiste o no la milza, non potendosi ammettere, almeno per ora, che nel sangue del cane smilzato circolino eritrociti speciali refrattarii quasi all'azione della pirodina.

Ma in rapporto alla questione che qui c'interessa, l'esame del sangue a secco ci ha fornito un reperto che a noi pare molto importante. Nei cani *splenectomizzati* e resi fortemente anemici con dosi ripetute di veleno, *comparvero numerosi nel sangue circolante ad un certo stadio della deglobulizzazione gli eritrociti nucleati.* Non di rado il preparato si mostrò gremito di globuli rossi nucleati.

Battistini e Rovere trovarono sovente nel cane e nel coniglio abbondanti i globuli rossi nucleati nel sangue dopo avvelenamento con pirodina. Nei nostri cani, quando non fu estirpata la milza, le cellule rosse nucleate furono scarse in qualunque stadio dell'avvelenamento si esaminasse il sangue (1).

Noi non intendiamo di tentare qui l'interpretazione di questo risultato altamente interessante, non avendo per ora nessun dato per farlo; ma dobbiamo però dichiarare che a noi pare

(1) L'amico dott. Massetti, assistente alla Clinica Medica di Bologna, volle gentilmente comunicare a uno di noi i risultati di sue ricerche ematologiche molto simili alle nostre, di cui egli non aveva conoscenza.

Egli pure trovò che i cani smilzati e sottoposti ad avvelenamento cronico di pirodina presentano numerosissimi eritrociti nucleati nel sangue circolante.

molto verosimile che queste emazie immature siano difficilmente intaccabili dalla pirodina, come quelle che sono molto povere in emoglobina, su cui hanno azione intensa gran parte dei veleni ematici.

Si aggiunga che il sangue dei cani smilzati contiene a un certo punto dell'avvelenamento, precisamente come quello dei cani con la milza, anche gran quantità di quei globuli che Poggi (1) per il primo colorò col bleu di metilene e che rappresentano, come egli ben dice, uno stadio intermedio fra la fase nucleare e quella della completa maturità. Con ogni probabilità anche queste forme, essendo poverissime di Hb, sono meno intaccabili dalla pirodina.

Quindi i cani smilzati, a un certo punto dell'avvelenamento per pirodina, conterrebbero nel sangue circolante una quantità così grande di emazie grandemente resistente all'azione della sostanza tossica, che gli effetti caratteristici verrebbero in gran parte a mancare.

Non possiamo infine chiudere questo capitolo dell'azione della pirodina sul sangue dei cani normali e splenectomizzati, senza fare rilevare l'aumento sensibilissimo verificatosi nel numero dei globuli bianchi dopo che gli animali, con o senza milza, ricevettero il veleno. Un risultato identico ottennero pure colla pirodina Mazzoni (2) nei polli e Battistini e Rovere nel cane e nel coniglio. Similmente Fusari (3) vide crescere notevolmente i leucociti nel sangue di cani, ai quali diede acido pirogallico, soluzione di Lugol e glicerina.

Da quanto siamo venuti esponendo, crediamo adunque di potere formulare le seguenti proposizioni:

a) La splenectomia diminuisce il numero dei globuli rossi e la quantità di emoglobina, e fa crescere il numero dei globuli bianchi.

b) La resistenza dei globuli rossi non si modifica sensibilmente in seguito all'esportazione della milza.

---

(1) G. Poggi, *Policlinico*, 1898.
(2) Mazzoni, *Pflüger's Arch.*, vol. L, 1891, pag. 587.
(3) Fusari, *Arch. per le Scienze med.*, vol. X, n. 12, pag. 236, 1886.

c) I cani smilzati tollerano dosi di pirodina senza dubbio mortali per quelli normali.

d) La pirodina produce una deglobulizzazione intensissima anche nei cani splenectomizzati, però in questi, a differenza di quanto succede nei cani con la milza, pare che la distruzione globulare per pirodina non vada oltre un certo limite.

e) A un certo punto dell'avvelenamento per pirodina il sangue circolante dei cani smilzati contiene grande quantità di eritrociti nucleati, e molti globuli rossi che si colorano a fresco col bleu di metilene.

f) Durante la somministrazione della pirodina cresce sensibilmente nel sangue il numero dei leucociti.

ESPERIENZE CON TOLUILENDIAMINA.

(*Vedi Tabelle a pag. 26, 27, 28, 29, 30 e 31*).

Dalle esperienze riferite possiamo anzitutto conchiudere che *l'estirpazione della milza non modificò sensibilmente gli effetti tossici della toluilendiamina.* Infatti dalle tabelle appare con la massima evidenza, che dosi pressochè uguali di veleno generano un ittero intenso tanto nei cani normali che in quelli smilzati.

Dai quadri stessi emerge chiaramente, come si possa somministrare ad un cane con o senza milza una dose complessiva di veleno straordinariamente alta senza produrre itterizia, nè alcun stato morboso, purchè la dose giornaliera non superi i limiti di tolleranza della sostanza stessa per parte dell'animale. Vast (1) contemporaneamente a noi trovò ugualmente che i sintomi che si manifestano dopo l'iniezione di cloridrato di toluilendiamina variano secondo le dosi, e che per quantità deboli di veleno, iniettate anche a lungo, i cani continuavano a mantenersi in buona salute. E già Stadelmann aveva rilevato questo abituarsi dei cani a dosi non forti di toluilendiamina.

(1) Lavoro citato.

Non è difficile darci una spiegazione di questi fatti, quando si ritenga la toluilendiamina più un veleno del fegato che del sangue. Egli è vero, come appare anche dalle nostre esperienze, che all' introduzione del veleno sussegue tosto una leggiera distruzione del sangue, la quale fa crescere nella bile la sostanza colorante; ma a questo periodo ne succede presto un altro in cui la bile diventa ricca in mucina, densa, scarsa in pigmenti biliari, poverissima in acidi biliari, tanto che Stadelmann ritiene questo liquido come un prodotto di secrezione della vescichetta biliare e dei grossi vasi biliari, anzichè vera bile. Frattanto compare nel cane l'itterizia, che diventando sempre più intensa finisce di costituire il sintomo più imponente dell'avvelenamento da toluilendiamina. Ora Stadelmann dimostrò che qui si tratta di un vero ittero da riassorbimento, dovuto alla serie di modificazioni che il veleno genera nel fegato.

S'intende in questo modo che essendo la toluilendiamina specialmente un *veleno epatico*, la presenza o la mancanza della milza non dovesse influire sull'intensità d'azione di detto veleno; ma che gli effetti dovessero invece essere *proporzionali* alla quantità di veleno somministrato, e che il cane potesse sopportare una quantità complessiva notevolissima di toluilendiamina, purchè la dose giornaliera non raggiungesse il limite tossico per il fegato.

In questo senso, e non altrimenti, noi crediamo che si possa parlare di costumanza del cane alla toluilendiamina. Si dia, infatti, un'occhiata all'esperienza II. Gr. 0,60 di toluilendiamina somministrati per bocca alla dose di gr. 0,20 al giorno produssero ittero intenso tanto nel cane normale che smilzato. Data la stessa dose giornaliera per iniezione sottocutanea, si poterono somministrare gr. 1,40 di veleno senza che l'animale presentasse alcun sintomo morboso, se si eccettua una leggiera azione emolitica. Ma portata la dose giornaliera iniettata a gr. 0,35, si ottenne ittero gravissimo subito dopo la prima iniezione. Probabilmente l'ittero che si ottenne nella somministrazione del veleno per bocca, fu dovuta più che a altera-

ESPERIENZE CON TOLUILENDIAMINA

Esperienza I.

Cagna, piuttosto giovine, ben nutrita, tenuta a dieta costante.

Data	Peso	Dose di veleno somministrata	Emometria	Globuli rossi per mm³	Globuli bianchi per mm³	Osservazioni
10 dicemb.	Kgr. 10,5		95	6.160.000	11.280	
11 »		gr. 0,50 per os	95	6.230.000	10.800	
12 »		» 0,50 »	90	6.029.000	10.000	
13 »			90	5.890.000	12.800	Leggiermente itterica. Ha vomitato.
14 »		» 0,50 »	85	5.548.000	14.960	Ittero poco intenso. Ha vomitato.
15 »			75	5.030.000	16.640	Ittero più intenso. Nelle orine gran quantità di pigmenti e acidi biliari.
16 »	» 10,4	» 0,50 »	70	4.940.000	13.500	Ittero intensissimo. Sta male.
		In toto gr. 2				
18 »	» 10,2		65	4.500.000	12.240	Continua l'ittero grave. Non mangia che poco.

28 »	» 10,0		75	5.860.000		Quasi scomparso l'ittero. La cagna è ritornata nelle condizioni primitive di salute.
13 gennaio	» 10,4		95	6.300.000	12.800	

Il 15 gennaio alle ore 14 si estirpa la milza.

19 »	» 10,3		80	5.844.000	18.300	
7 febbraio			85	6.000.000	16.000	
14 »		gr. 0,50 per os	85	5.980.000		
15 »		» 0,30 »	80	5.720.000		
16 »		» 0,30 »	75	5.435.000		Leggiera tinta itterica.
18 »	» 10,2		70	4.450.000		Itterizia leggiera. È un po' abbattuta.
20 »		» 0,50 »	70	4.400.000		Ittero un po' più marcato.
21 »	» 10	» 0,30 »	68	4.200.000		Ittero intenso. Ha vomitato; non vuol mangiare, orine ricche di pigmenti e acidi biliari.
		In toto gr. 1,90				
23 »	» 9,7		60	3.800.000		Come sopra. Emette colle feci gran quantità di muco.
24 »	» 9,5		60	4.000.000		
26 »	» 9,8		65	4.248.000		Tinta itterica molto meno marcata, da ieri ha ripreso a mangiare.
28 »						Nella notte introdusse la testa fra i ferri della gabbia e rimase strozzata. All'autopsia si rilevano i sintomi di un grave catarro duodenale.

Esperienza II.

Cagna giovine, ben nutrita, tenuta a dieta costante.

Data	Peso	Dose di toluilendiamina somministrata	Emometria	Globuli rossi per mm³	Globuli bianchi per mm³	Osservazioni
3 marzo	Kgr. 6,6		100	7.900.000	5.360	
12 »		gr. 0,20 per os	100	7.890.000	8.480	
13 »		» 0,20 »				
14 »	» 6	» 0,20 »	80	6.000.000	12.320	Leggiera tinta itterica. Ha rifiutato in gran parte il cibo.
15 »	» 5,8	In toto gr. 0,60	80	5.760.000		Ittero più intenso. Non defeca; mangia solo piccola parte della sua razione.
16 »	» 5,7		75	5.600.000	10.400	Tinta itterica molto marcata. Con clistere si ottengono feci d'un giallo intenso miste a gran quantità di muco. Mangia poco.
18 »	» 5,6		70	5.200.000		Ittero meno marcato. Mangia.
20 »			70	5.184.000	12.000	Quasi scomparso l'ittero.
23 »	» 6		78	6.200.000	8.800	La cagna sta bene. Non è più itterica.
28 »	» 6,1		95	6.800.000	8.000	

» aprile	[illegible]		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
12 »	» 5,9		75	5.760.000	20.960	Continua la suppurazione.
25 »	» 6,1		85	6.180.000	12.000	Cessata da qualche giorno la suppurazione, la ferita è guarita.
28 »	» 6,1	gr. 0,20 per os	85	6.100.000	13.040	
29 »		» 0,20 »	85	6.120.000	12.800	
30 »	» 5,9	» 0,20 »	75	5.800.000	16.400	Mucose visibili e sclerotica leggiermente tinte in giallo. Abbattuta; non consuma tutta la sua razione.
		In toto gr. 0,60				
1° maggio			68	4.500.000	15.200	Ittero intensissimo. Non mangia; vomita.
2 »	» 5,5		45	2.840.000	14.000	Persiste l'ittero. Con clistere si ottengono feci intensamente gialle commiste a gran quantità di muco.
5 »	» 5,8		48	3.000.000		L'ittero si è fatto molto meno grave. La cagna mangia.
8 »	» 6		60	4.480.000	8.000	Scomparso l'ittero. La cagna sta bene.
19 »	» 6,1		75	4.720.000		
23 »	» 6,3	gr. 0,20 sotto cute	80	5.316.000	8.000	Si dà la sostanza per iniezione, nel dubbio che il catarro duodenale e quindi l'ittero fossero dovuti ad un'irritazione locale prodotta dalla sostanza ingesta.
24 »		» 0,20 »	75	5.120.000	8.960	
25 »		» 0,20 »	75	5.000.000	11.440	La cagna sta benissimo.
26 »	» 6,35	» 0,20 »	70	4.750.000	10.480	
27 »			68	4.220.000	9.960	
28 »		» 0,20 »	65	4.268.000		
29 »		» 0,20 »	65	4.160.000	9.780	

Segue **Esperienza II.**

Data	Peso	Dose di toluilendiamina somministrata	Emometria	Globuli rossi per mm^3	Globuli bianchi per mm^3	Osservazioni
31 maggio	Kgr. 6,3		60	4.080.000		
2 giugno	» 6,4	gr. 0,20 sotto cute	65	4.094.000	12.000	Condizioni sempre ottime.
3 »		In toto gr. 1,40	60	4.096.000		
13 »	» 6,5	gr. 0,35 per iniez.	80	5.520.000	9.500	
14 »			75	5.380.000	10.000	Meno festosa. Non ha consumato tutta la sua razione.
15 »	» 6,2		65	4.800.000	10.600	Sta male; leggiermente itterica. Non ha mangiato, ha vomito.
16 »			55	4.000.000		Ittero intenso. Non mangia.
18 »	» 5,8		50	3.430.000	14.120	Idem.
19 »	» 5,6		50	3.500.000		Colorazione itterica meno marcata. Ha mangiato un poco.
21 »	» 5,8		55	4.200.000	10.080	Leggiera tinta itterica. Mangia col solito appetito.
23 »			55	4.348.000		Scomparso l'ittero.
15 luglio	» 6,2		70	4.890.000	9.800	Sta ottimamente.

Esperienza XXI.

Cane adulto, robusto, tenuto a dieta costante.

Data	Peso	Dose di toluilendiamina somministrata	Emometria	Globuli rossi per mm³	Globuli bianchi per mm³	Osservazioni
31 maggio	Kgr. 7,5	gr. 0,30 per iniez.	90	6.720.000	12.800	
1° giugno			75	5.830.000	12.920	Ittero lieve. Il cane è molto abbattuto. Non consumò che parte della sua razione.
2 »	» 7,2		70	5.700.000	12.000	Ittero intensissimo. Ha vomito; non mangia.
4 »	» 7,0		55	4.240.000		Condizioni invariate. Mediante clistere l'animale emette feci d'un giallo carico commiste a molto muco.
8 »	» 6,8		60	4.860.000		Ittero quasi scomparso. Ha ripreso a mangiare.
14 »	» 7,0		70	5.280.000	11.200	Scomparsa l'itterizia. Sta bene.
22 »	» 7,3	» 0,20 »	90	7.100.000	8.000	
23 »		» 0,20 »	85	6.600.000	9.500	
25 »			80	5.300.000		
26 »	» 7,2	» 0,20 »				Sta bene. È festoso.
27 »			75	5.260.000		
28 »		» 0,20 »				
29 »			75	5.100.000		
30 »	» 7,25	» 0,20 »	70	5.000.000	8.800	
1° luglio		» 0,20 »	65	4.890.000		
		In toto gr. 1,20				
3 »	» 7,3		65	4.560.000		Sta ottimamente.
9 »			75	5.350.000	10.200	Idem.

zioni del fegato, a forte irritazione locale che generò un'intensa duodenite, e conseguentemente chiusura dello sbocco del coledoco. L'enorme quantità di muco che l'animale eliminò colle feci dà buon fondamento a questa supposizione. Resterebbe così chiarito perchè bastò una dose giornaliera di veleno molto più debole per dare l'itterizia per la via gastro-enterica.

Ma noi non intendiamo di internarci oltre nell'origine dell'ittero da toluilendiamina, poichè usciremo troppo dal nostro argomento; a noi basta di avere esposto le ragioni per cui, secondo noi, l'estirpazione della milza non può modificare nè la intensità nè il modo di agire della toluilendiamina.

Noi non possiamo assolutamente ammettere che la toluilendiamina sia nel cane (1) un veleno ematico, quantunque questa formi l'opinione più comune. Noi non abbiamo mai notato emoglobinuria nell'avvelenamento per toluilendiamina, e Vast, che esaminò il sangue di 4 in 4 ore dopo l'iniezione del veleno, non trovò mai emoglobina sciolta nel plasma. Inoltre dalla determinazione del contenuto del sangue in globuli rossi e Hb, non risultò che una leggiera diminuzione di questa e di quelli, anche dopo somministrazione prolungata del veleno. Solo quando si ebbe per esito dell'avvelenamento un'itterizia intensa, allora gli eritrociti e l'emoglobina subirono una diminuzione notevole, ma questo risultato fu certo dovuto più ai principii biliari portati in circolo che al veleno. Egli è vero che Silbermann (2) e Afanassiew (3) credono che i varii veleni ematici agiscono diversamente sul sangue.

Così la glicerina esporterebbe l'Hb dal globulo, che si diffonderebbe nel plasma, mentre i globuli stessi non andrebbero distrutti. Altri veleni, come l'acido pirogallico, produrrebbero allo stesso tempo fuoruscita dell'emoglobina e frammentazione del globulo, altri infine, come la toluilendiamina, genererebbero specialmente frammentazione del globulo.

---

(1) Diciamo espressamente « nel cane », perchè è noto che la toluilendiamina ha azione ben diversa nel cane e nel gatto.

(2) Silbermann, *Zeitschr. f. Klin. Medic.*, Bd. XI.

(3) Afanassiew, *Virchow's Archiv*, Bd. 98.

Ma se le esperienze sugli animali dimostrarono fino all'evidenza che i globuli rossi delle diverse specie d'animali, e forse anche degli animali della stessa specie, presentano una resistenza differente verso i varii veleni, molto meno sicure sono invece le ragioni su cui si volle fondare la teoria che attribuisce a ogni veleno ematico un'azione sua propria, caratteristica sul sangue.

Noi crediamo con Stadelmann, che questa differenza di azione non sia stata dimostrata in modo certo nel sangue circolante. Così l'esame del sangue a fresco e a secco dopo l'avvelenamento con toluilendiamina ci fece bensì rilevare le alterazioni dei globuli rossi descritte da Afanassiew per il primo, ma esse non furono certo così numerose da convincerci che l'azione della toluilendiamina consisteva in una frammentazione globulare, e che l'ittero era una conseguenza di quella alterazione globulare.

Lo stesso si dica della determinazione del ferro che Vast (1) praticò nel fegato e nella milza di cani avvelenati con toluilendiamina. Intanto egli non lavò sempre il fegato, e la milza era piena di sangue, condizioni d'esperienza che tolgono già molto valore alle determinazioni eseguite. Inoltre l'aumento fu notevole solo quando la quantità di veleno iniettata fu elevata. Ma in questo caso essendo comparso anche lo stato itterico è molto verosimile che il di più di ferro trovato sia dipeso, almeno in parte, dall'azione dissolvente degli elementi biliari sul sangue.

Adunque queste ricerche che noi abbiamo fatto nella persuasione che la toluilendiamina fosse, come la pirodina, un veleno ematico, ci hanno portato, all'opposto, a conchiudere che la *toluilendiamina è anzitutto come il fosforo un veleno del fegato e in minima parte un veleno del sangue* (2).

(1) Lavoro citato.

(2) Il lavoro era già in corso di stampa, quando siamo venuti a conoscenza di una nota di Lapicque e Vast sull'azione della toluilendiamina sul sangue (*Compt. rend. de la Société de Biol.*, 19 maggio 1899). Questi

Del resto questa è in fondo anche l'opinione di Stadelmann. Egli trovò infatti grande somiglianza dei fenomeni morbosi nell'avvelenamento da toluilendiamina e da fosforo, decorso della secrezione biliare quasi identico nei due avvelenamenti, e riportò alla stessa causa, ad alterazioni del fegato, l'ittero che si ha in un caso e nell'altro.

β) *Ricerche chimiche.*

La ricerca chimica andò di pari passo con quelle ematologiche, e riguardò in particolar modo le feci e le orine. Nelle feci ricercammo specialmente la stercobilina e i pigmenti biliari; nelle orine, l'urobilina, l'ematoporfirina, i pigmenti e acidi biliari e tutte quelle altre sostanze che potevano riconoscere nel pigmento biliare e sanguigno la loro origine, e che potevano eventualmente essere presenti nelle orine dei nostri cani.

In qualche caso, ucciso il cane ad un certo punto dell'intossicamento, estraemmo i visceri con alcool assoluto allo scopo di vedere se nell'estratto passava urobilina o pigmento biliare (1).

La ricerca dell'urobilina la praticammo pure talora sul siero di sangue di animale avvelenato sia normale che smilzato, ed identica ricerca eseguimmo pure in molti campioni di bile ottenuta da cani operati di fistola biliare, oppure raccolta dalla vescichetta biliare di cani venuti a morte in laboratorio in seguito alle esperienze le più svariate. La bile fu estratta na-

---

AA. ribadiscono la tesi già sostenuta da Vast, che la toluilendiamina *non agisce tanto distruggendo i globuli rossi del sangue circolante, quanto diminuendone la resistenza.*

(1) Dastre e Floresco fanno notare come l'alcool dia spesso una splendida reazione dei pigmenti biliari col reattivo di Gmelin. Noi abbiamo confermato, alla nostra volta, questo fatto. Bisogna perciò usare molta cautela prima di conchiudere se un estratto contiene sostanza colorante biliare, quando l'estrazione sia praticata, come per lo più avviene, con alcool. — Dastre e Floresco, *Arch. de physiol. norm. et pathol.*, 1898, vol. X.

turalmente subito dopo la morte dell'animale, per escludere il dubbio che avessimo a fare con bile già in putrefazione. Queste ricerche sugli organi, sul siero di sangue, sulla bile, ecc., ebbero veramente di mira uno studio sulla genesi dell'urobilina. Non riferiamo qui i risultati ottenuti per non uscire troppo dall'argomento del presente lavoro, ma ne faremo oggetto di una apposita nota.

Per estrarre l'urobilina dalle feci seguimmo le indicazioni di Vitali (1), trattando noi pure le feci con alcool bollente. Secondo noi è un metodo ottimo per la ricerca qualitativa, poichè mentre esso ci svela anche quantità piccolissime di stercobilina, non presenta l'inconveniente che si ha nell'estrazione con alcool acido, in cui le feci cedono al liquido le sostanze le più svariate. Si viene così ad avere un filtrato nerastro che presenta all'esame spettroscopico spettri diversi, a seconda, specialmente, dell'alimentazione a cui fu sottoposto l'animale. Zoia (2) nella sua conferenza clinica sul bilinogeno e la bilina, rileva pure questo grave danno dell'estrazione delle feci con alcool acido.

Le orine dopo filtrazione vennero esaminate allo spettroscopio, e direttamente e dopo aggiunta di qualche goccia di acido cloridrico o di acido nitrico-nitroso.

Si fece pure la prova dei pigmenti biliari secondo Gmelin e Maréchal. Evidentemente non potemmo accontentarci di questo semplice saggio qualitativo, e perciò ad ogni analisi dividemmo per lo più le orine in tre porzioni. Una la trattammo secondo Mehù, l'altra la precipitammo con miscela baritica, e estraemmo il precipitato ben lavato con alcool acidificato con acido cloridrico o solforico, la terza porzione servì infine per la ricerca dell'emato-porfirina, nella quale ricerca ci attenemmo alle norme che dà Salkowski (3). In quelle orine che avevano una tinta bruna, o che diventavano tali

---

(1) Fabio Vitali, *Morgagni*, anno XXXIX, 1897.
(2) L. Zoia, Conferenze cliniche italiane. Serie I, n. 7, pag. 311.
(3) Salkowski, *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, vol. 15, 1891.

stando all'aria, ricercammo pure l'eventuale presenza di melanina, seguendo le indicazioni che Neubauer e Vogel dànno nel loro trattato di analisi delle orine. Come pure praticammo la ricerca degli acidi biliari nelle orine secondo Hoppe-Seyler, ogni qualvolta che queste contenevano ricca quantità di sostanza colorante biliare. Ci parve, così operando, che non solo non ci sarebbe potuta sfuggire la presenza nelle orine di pigmento e acidi biliari e urobilina, anche se contenutevi in quantità piccolissima, ma che ci sarebbe stata svelata anche l'eventuale esistenza di altre sostanze che come l'ematoporfirina, provengono dal pigmento sanguigno.

Esperienza I.

Cagnetta che servì per la prima esperienza con pirodina. Fu smilzata il 9 febbraio alle ore 14.

17 marzo. — Dal 23 febbraio al 13 marzo ebbe gr. 0,32 pirodina corrispondenti a gr. 0,08 per Kgr. in peso. I globuli rossi discesero da 6.240.000 a 2.420.000; l'Hb da 90 a 35 (Vedi tabella a pag. 10). Malgrado ciò, la cagna stette sempre bene e nelle orine non comparvero mai nè pigmenti biliari, nè sangue, nè albumina, nè urobilina. Nelle feci si trovarono, al contrario, quasi sempre quantità forti di urobilina.

18-19-21 marzo. — *Gr. 10 pirodina* sotto cute *pro die*. — Al 21 marzo i globuli rossi erano 1.800.000, Hb 30. Nelle urine nulla degno di nota. Dalle feci del giorno 18 si ottenne un estratto che in istrato di 25-30 millim. presentava assai leggiera la stria urobilinica e la reazione zinco-ammoniacale. Le feci invece degli altri giorni diedero un estratto che dava intensissima la stria urobilinica e la reazione zinco-ammoniacale.

22 marzo. — Orine giallo oro, estratte secondo Mehu dànno un liquido alcoolico che presenta allo spettroscopio leggierissima stria in γ. Le feci sono d'un bruno nerastro e dànno un estratto alcoolico che va allungato 40 volte perchè scompaia la stria urobilinica in uno strato di 20 millim.

23 marzo. — Pirodina gr. 0,10 sotto cute. Orine come sopra. Feci meno nere e meno ricche in bilina. Basta allungare 10 volte l'estratto alcoolico perchè scompaia la stria.

24 marzo. — Le orine non contengono urobilina; l'estratto alcoolico delle feci va allungato 6 volte perchè scompaia la stria urobilinica.

25 marzo. — Globuli rossi 1.880.000, Hb 30. La cagna sta benissimo. Orine color marsala; estraendole forniscono un liquido alcoolico che presenta leggiera stria urobilinica; reazione zinco ammoniacale evidente. Nelle feci molta stercobilina. Pirodina gr. 0,10 sotto cute.

26-27 marzo. — Come sopra.

29 id. — Orine giallo oro senza urobilina. Feci meno ricche in stercobilina.

1° aprile. — Manca la bilina anche nelle feci.

19 id. — Sta bene. Pesa Kgr. 3,8. Temp. rettale 38,80, Hb 55. Iniezione di 50 cc. di acqua stillata e bollita nella vena femorale. Mezz'ora dopo l'iniezione la temperatura rettale era 39,90.

20 aprile. — Sta bene. Temp. rett. 38,90. Hb 55. Glob. 4.080.000. Orine giallo oro senza albumina, urobilina, pigmenti biliari e sangue. Feci molliccie, nerastre, con molta stercobilina.

22 aprile. — Orine di un giallo carico, estratte dànno un liquido che all'esame spettroscopico dà una leggiera stria in γ. Reazione zinco ammoniacale evidente. Feci molli, brune, che contengono molta bilina. Alle ore 17 si uccide la cagna iniettando aria nella giugulare di destra.

Autopsia. — Tutti gli organi si presentano estremamente anemici; — mucosa intestinale pallidissima — ghiandole linfatiche ingrossate — manca ogni traccia di rigenerazione della milza — midollo osseo d'un rosso bruno intenso per tutta l'estensione del femore.

Si divide l'intestino in tre porzioni: duodeno, tenue e crasso al di sotto della valvola ileo cecale e si raccoglie separatamente il contenuto intestinale che viene estratto con alcool bollente. Il contenuto del duodeno e del tenue dà un estratto incoloro o quasi, che non dà spettro anche se acidificato con acido nitrico-nitroso; il contenuto del crasso dà un estratto giallo oro ricchissimo in stercobilina.

Esperienza II.

Cane che servì per la seconda esperienza con pirodina.

11-12 marzo. — Feci normali per consistenza, colore, con scarsa stercobilina. Nelle orine nulla degno di nota. — Alle ore 18 del 12 marzo gr. 0,07 pirodina, cioè gr. 0,01 per Kgr. di cane.

13-14 marzo. — Di nuovo gr. 0,07 pirodina *pro die.* Le feci erano molliccie, brune; estratte con alcool bollente diedero un liquido che presentò allo spettroscopio intensissima la stria urobilinica, marcatissima pure la reazione zinco ammoniacale. Nelle orine del giorno 13 nulla di speciale; quelle del giorno 14 avevano una tinta giallo carica e col solito trattamento diedero un estratto alcoolico bruniccio con stria urobilinica intensa e reazione zinco-ammoniacale evidentissima.

15 marzo. — Nelle feci molta stercobilina, nelle urine evidente la reazione dell'urobilina.

16 marzo. — Perdute le orine. Nelle feci scarsa la bilina, ma evidente la presenza dei pigmenti biliari.

17 marzo. — Orine d'un giallo intenso che non contengono nulla d'anormale. Nelle feci è quasi mancante la stercobilina, mentre sono evidenti le reazioni dei pigmenti biliari. Al momento dell'emissione le feci avevano un color verdastro: Pirodina gr. 0,07.

18 marzo. — Orine itteriche che dànno con la massima evidenza la reazione della sostanza colorante biliare. Trattate con la miscela baritica, lavato e estratto il precipitato con alcool acidificato con acido cloridrico, dànno un liquido *verde* che per ossidazione con acido nitrico nitroso passa al *bleu*, poscia al *rosso vinoso* e infine al *giallo.* Nel momento che il liquido diventa bleu mostra le strie α, β, γ della *bilicianina* in soluzione *acida.* Di queste strie la più debole è β, la più intensa α. Nei successivi passaggi di colore del liquido va scomparendo prima β, poscia α, cosicchè quando l'estratto ha assunto la tinta gialla non resta che γ, che si è frattanto fatta più intensa. Questa stria si mantiene a lungo perdendo assai poco della sua intensità. Le feci molli giallastre dànno le reazioni dei pigmenti biliari e estratte con alcool bollente presentano pure nel filtrato la stria della stercobilina. — Si ridà gr. 0,07 di pirodina.

19-20 marzo. — Orine *sanguinolenti.* Si precipitano con miscela baritica, si lava il precipitato finchè scompaiono le strie del sangue,

si raccoglie il precipitato e si estrae con alcool acidificato con acido cloridrico. Si ottiene un liquido bruno verdastro che dà lo spettro dell'*ematina* in soluzione acida. Per aggiunta di acido nitrico-nitroso il liquido si intorbida; lasciato a sè si forma un leggiero deposito e il liquido soprastante si colora in giallo bruno presentando intensissima la stria *urobilinica.*

Le feci sono molliccie di color bruno chiaro. L'estratto alcoolico ha un color *rosso bruno* proprio delle soluzioni di *idrobilirubina.* Per aggiunta di reattivo zinco-ammoniacale si ha oltre la fluorescenza intensa, lo spettro a tre strie che Mac Munn dà per l'idrobilirubina in combinazione zinco-ammoniacale; una stria quasi in C ben delimitata, intensa, una sfumata in D e la terza tra *b* e F assai vicina a F.

21 marzo. — Orine *con sangue*, ma *meno* dei giorni precedenti. Col solito trattamento si ha un estratto d'un bel verde, che per aggiunta di acido nitrico-nitroso passa al bleu, al rosso vinoso e infine al giallo.

Feci molliccie ricchissime di stercobilina.

22 marzo. — Orine itteriche senza sangue o senza albumina che dànno intensissime le reazioni dei pigmenti biliari. Le feci molliccie giallastre, sono straordinariamente ricche in bilina; l'estratto alcoolico nel solito strato di 20 mm., allungato 70 volte, dà ancora sfumata la stria in γ.

23 aprile. — Orine con leggiera tinta itterica, incerta reazione Gmelin. Feci molto ricche in stercobilina.

24-25. — Orine normali per colorito, non contengono nè urobilina, nè pigmenti biliari. Feci naturali per colore e consistenza; contengono molta stercobilina.

4 aprile. — Manca la bilina nelle feci e nelle orine; anche acidificando gli estratti con acido acetico o acido nitrico-nitroso.

Alle ore 15 del 13 aprile si estirpa la milza.

25-26-27 aprile. — Orine pallidissime, feci normali senza bilina. Alle ore 18 del 27 aprile si somministrano per bocca gr. 0,08 di pirodina.

28-29 aprile. — Pirodina gr. 0,08 *pro die*. Orine sempre pallide non contengono nulla d'anormale. Feci naturali per colore e consistenza non contengono bilina.

30 aprile. — Feci d'un bel giallo, dànno evidenti le reazioni dei pigmenti biliari. Orine giallo paglierino senza caratteri speciali.

2 maggio. — Nelle orine nulla degno di nota; le feci sono d'un giallo bruno, dànno marcata la reazione dei pigmenti biliari, e estratte con alcool bollentè presentano intensissima la reazione della stercobilina: gr. 0,07 pirodina.

4 maggio. — Orine giallo oro estratte secondo Mehu dànno un liquido gialliccio che presenta in γ una leggiera stria. Feci molli ricche in stercobilina. Il cane sta benissimo.

5-6 maggio. — Manca la bilina nelle orine e nelle feci. Alle ore 18 del giorno 6, gr. 0,07 pirodina.

7-8 maggio. — Orine come sopra. Feci molli gialliccie che dànno nell'estratto alcoolico abbastanza evidente stria urobilinica. Alle ore 18 del giorno 7 maggio il cane riebbe gr. 0,07 pirodina.

9 maggio. — Nelle orine d'un color giallo carico nulla di speciale; nell'estratto alcoolico delle feci intensissima la stria urobilinica che è ancora ben limitabile dopo diluizione al ventesimo. Reazione zinco-ammoniacale straordinariamente marcata. Gr. 0,14 pirodina *sotto cute*.

Dal 10 al 19 maggio. — Orine e feci coi caratteri sopra descritti. Si diede la pirodina per iniezione sottocutanea e nella dose di gr. 0,20 per volta nei giorni 11, 13, 14, 18 maggio.

20 maggio. — Hb 35. Glob. rossi 2.872.000. Il cane sta benissimo. Manca la bilina nelle feci e nelle orine.

Esperienza III.

Cagnetta che servì per la terza esperienza con pirodina.

20 aprile. — Orine giallo paglierino, senza albumina, pigmenti biliari e urobilina. Feci cretacee dure, l'estratto alcoolico è quasi incoloro e non dà stria urobilinica.

22-23 aprile. — Gr. 0,07 pirodina per iniezione sottocutanea *pro die*. Orine e feci come sopra.

24 aprile. — Orine d'un giallo più carico che non contengono nulla d'anormale. Feci in parte cretacee, in parte molli, brunicce. L'estratto alcoolico dà piuttosto marcato lo spettro dell'urobilina e la reazione zinco-ammoniacale.

25 aprile. — Orine itteriche che dànno marcatissima la reazione di *Gmelin;* non si nota la presenza di albumina. Trattate con mi-

scela baritica o secondo Mehù, dànno un estratto alcoolico d'un bel verde, che per ossidazione con acido nitrico-nitroso dà la successione di colori e spettri già descritti.

Feci d'un giallo bruno con pigmenti biliari e molta stercobilina. Pirodina gr. 0,08.

26 aprile. — Orine fortemente itteriche con traccie di sangue: albumina in scarsa quantità; reazioni di *Gmelin* e *Maréchal* intensissime. Su una parte delle orine si pratica la ricerca degli acidi biliari secondo il metodo di *Hoppe-Seyler*, che dà risultato negativo. La parte residua delle orine trattata nel solito modo dà un estratto alcoolico d'un verde intenso che si comporta nel solito modo. Feci nerastre tendenti al rossiccio; vere feci da emolisi, contengono una gran quantità di stercobilina. L'estratto alcoolico va allungato 50 volte perchè scompaia la stria urobilinica in uno strato di 20 millim.

27 aprile. — Orine coi caratteri di ieri, però un po' meno itteriche. Feci molliccie, brune, ricche di stercobilina. Pirodina gr. 0,08.

28 aprile. — Orine intensamente itteriche con un po' di sangue, albumina scarsa, acidi biliari mancanti; l'estratto alcoolico d'un bel verde si comporta nel solito modo. Feci scure molliccie, contengono pigmenti biliari e gran quantità di stercobilina. Cane depresso, ha vomito, non mangia. Hb 35. Glob. 2.820.000.

29-30 aprile. — Idem.

1 maggio. — Orine sempre itteriche, dànno marcatissima reazione Gmelin, ma manca sangue e albumina. L'estratto alcoolico di color verde ha il solito comportamento, però l'esame spettroscopico rivela pure la presenza di urobilina.

4 maggio. — Orine giallo oro, non contengono più nè pigmenti biliari, nè urobilina. Feci gialliccie con poca stercobilina.

10 maggio. — Orine giallo paglierino, nulla degno di nota. Manca la bilina anche nelle feci.

28 maggio. — Alle ore 16 si estirpa la milza.

15-16-17 giugno. — Orine pallide non contengono nulla d'anormale. Feci giallo grigiastre senza stercobilina. Pirodina gr. 0,24 *pro die* per iniezione sottocutanea al 15-16 giugno.

18 giugno. — Orine un po' più gialle. Feci giallastre; dànno un estratto alcoolico con leggiera stria urobilinica. Pirodina gr. 0,24.

19 giugno. — Orine giallo oro affatto normali. Feci giallo brune, estratte con alcool dànno un liquido giallo citrino senza stria urobilinica, questa compare in modo manifesto coll'aggiunta di acido acetico o acido nitrico-nitroso al liquido.

20 giugno. — Orine d'un color giallo tendente al bruno; non contengono nè albumina, nè sostanza colorante del sangue, nè pigmenti biliari, nè urobilina. La ricerca dell'ematoporfirina dà risultato completamente negativo.

Feci formate, gialle, contengono molta stercobilina.

21 giugno. — Orine d'un giallo carico, senza nulla d'anormale. Feci formate, nerastre, con molta stercobilina. Pirodina gr. 0,24.

22-23 giugno. — Orine e feci come sopra. Il 23 giugno alle ore 17 pratico un piccolo salasso dalla giugulare di destra. Il siero che si separa dal sangue lasciato coagulare è *giallo citrino*, senza traccia di emoglobina. La cagna è profondamente anemica, ma le condizioni generali sono ottime.

Il 23 giugno gr. 0,24 pirodina.

24-25-26-27 giugno. — Orine e feci come sopra.

29 giugno. — Orine gialle paglierino, feci gialliccie senza stercobilina.

26 luglio. — Id. Pirodina gr. 0,50 per iniezione sottocutanea.

27 id. — Orine con poco sangue; si precipitano con miscela baritica, si lava il precipitato fino a scomparsa del sangue nel filtrato e si estrae quindi con alcool acido. Il liquido bruniccio così ottenuto dà lo spettro dell'ematina in soluzione acida. Feci d'un giallo verdastro, contengono manifestamente la presenza di pigmenti e acidi biliari. L'esame spettroscopico dell'estratto alcoolico svela la presenza di una intensissima stria urobilinica, malgrado il color verdiccio del liquido.

28-29 luglio. — Orine e feci coi caratteri di ieri. Esaminando il leggiero sedimento formatosi sul fondo del vaso delle orine si riscontrano corpuscoli rossi poco alterati e cilindri ialini. Alle ore 19 del 29 luglio pratico un nuovo salasso di 40 cm.^{3} dalla giugulare di sinistra. Il siero separatosi nella notte è *limpido, giallo citrino.*

30 luglio-2 agosto. — Orine senza sangue, senza albumina, senza urobilina e senza sostanza colorante biliare. Nelle feci è evidente la presenza di bilina, mancano i pigmenti biliari.

Alle ore 19 del 2 agosto mezzo gr. di pirodina sotto cute.

3 agosto. — Orine con poco sangue. La cagna sta malissimo, ebbe perdita di feci liquide che si mescolarono colle orine, rendendo così impossibile l'analisi delle une e delle altre.

4 agosto. — Morta nella notte. Dalla vescica si estrae un po' di orina con sangue. Estrattala nel solito modo si ottiene un liquido bruno rossiccio che dà manifesta la stria urobilinica e la reazione zinco-ammoniacale.

Autopsia. — Fegato bruno alquanto ingrossato. Nella cistifellia poca bile bruna, densa, filante, che contiene discreta quantità di urobilina. Reni e polmoni estremamente anemici; mucosa intestinale pallidissima; ghiandole linfatiche ingrossate. Manca ogni accenno alla rigenerazione della milza.

Abbiamo trascritto integralmente il protocollo delle esperienze, perchè ci pare che da esso emerga, nel modo più lampante, l'enorme differenza nei caratteri delle orine a seconda che la pirodina fu somministrata a cani normali oppure splenectomizzati. Nei cani normali già dosi piccole diedero passaggio di sangue, di pigmenti biliari e albumina nelle orine, e anche l'urobilina si trova talora in forte quantità nel secreto renale (Esperienza II, 19-20 marzo). Contemporaneamente l'animale presentò sintomi morbosi gravi, forte abbattimento, vomito, ripugnanza assoluta al cibo. Nell'animale smilzato invece nulla di tutto ciò. Il cane stette sempre bene, e nelle orine si trovò al più traccie di urobilina, malgrado l'intensa distruzione sanguigna.

Bisognò somministrare in una sola volta una dose straordinariamente alta di pirodina (Esperienza III) perchè nelle orine passasse sangue, ciò nondimeno mancò la sostanza colorante biliare e l'urobilina, o se ne trovarono solo piccole quantità. Invece l'esame del sedimento dimostrò nelle orine stesse la presenza di globuli rossi e di elementi renali, onde non è inverosimile che il sangue sia passato nel secreto renale, direttamente, attraverso l'epitelio renale alterato.

Tanto è fondata questa supposizione, che dal sangue estratto dalla giugulare 72 ore dopo l'avvelenamento, si ottenne un siero *limpido* di color *citrino*, senza la più piccola traccia di

sostanza colorante del sangue, quantunque il reperto del sangue nelle orine fosse ancora positivo. Una nuova e identica dose di veleno condusse a morte rapidamente l'animale, non già perchè la distruzione del sangue e la conseguente diminuzione dell'ossiemoglobina avessero forse superato i limiti compatibili colla vita, ma perchè l'azione tossica generale si sovrappose a quella caratteristica della pirodina sul sangue.

Tanto è vero che al momento della morte i globuli rossi erano ancora 2.600.000, e il sangue, benchè di color lacca e tanto facilmente coagulabile da rendere impossibile una determinazione quantitativa esatta del valore emoglobinico del sangue, pure presentava allo spettroscopio ben evidenti le strie dell'ossiemoglobina.

A un cane giovine, *non smilzato,* del peso di 18 chilogrammi, si somministrò la pirodina a dosi rifratte di gr. 0,50 fino alla quantità complessiva di 2 grammi. Si ottenne una emoglobinuria così intensa che le orine assunsero i caratteri di una soluzione concentratissima di sangue. Il sangue usciva dai vasi così scolorito da far quasi dubitare che si trattasse di liquido sanguigno. Un po' di questo sangue sciolto in acqua dava alla soluzione un roseo sbiadito e al fondo del tubo si formava celeramente un sedimento di globuli frantumati. Il cane venne rapidamente a morte, ma l'ultimo giorno di vita il conteggio dei globuli rossi, difficilissimo per l'estrema alterabilità dei corpuscoli, dava ancora una media di 1.500.000 globuli rossi pallidissimi, e di cui molti completamente scoloriti. Il cane presentava pure fenomeni evidenti di anemia bulbare profonda: pelle fredda, pupilla dilatata, respiro profondo, raro e talora assolutamente periodico. All'autopsia si trovarono i visceri esangui, la mucosa dello stomaco e dell'intestino d'un bianco smorto. Abbiamo conchiuso per tutti questi fatti che il cane soggiacque non tanto per la distruzione degli elementi colorati, quanto perchè la quantita di Hb non era più sufficiente per i bisogni dell'organismo.

Con ciò non vogliamo già negare che nei casi splenectomizzati non si possa presentare una sindrome simile, quando

si somministri loro in breve spazio di tempo una forte dose di un veleno di azione rapida e potente sul sangue.

A un cane senza milza iniettiamo sotto cute, nel termine di 48 ore, 2 grammi di acido pirogallico. Si ebbe assai presto emoglobinemia e emoglobinuria intensissima, dal sangue si separò un siero di un rosso carico e che presentò lo spettro caratteristico della metemoglobina. Il sangue sciolto in acqua formò assai presto un ricco sedimento, la pelle andò gradatamente raffreddandosi, la pupilla divenne più larga, il respiro prese una forma marcatamente periodica. L'animale morì il terzo giorno dopo l'ultima iniezione presentando alla autopsia i visceri esangui e il fegato di un color noce moscata.

Ma questo identico decorso dell'avvelenamento acuto per veleno ematico nei cani normali e smilzati, non infirma punto, a nostro parere, la conclusione che i cani smilzati possano introdurre dosi di pirodina molto più elevate che quelli normali senza che presentino sintomi morbosi, o senza che si trovino nelle orine quelle sostanze che noi consideriamo come indice della metamorfosi regressiva della sostanza colorante del sangue e del maggiore lavoro del fegato, quantunque la distruzione degli elementi colorati del sangue avvenga in alto grado. A compimento di questa conclusione si deve però dire, che la dose di veleno data in una sol volta al cane splenectomizzato non deve essere esageratamente elevata, se non si vuole che le differenze sopraccennate siano, per così dire, coperte dalla successione di fenomeni morbosi consecutivi all'avvelenamento acuto.

Dobbiamo ora domandarci da che dipende questa diversa azione della pirodina a seconda che è presente o no la milza. Noi non possiamo che richiamarci a quanto uno di noi ha già detto in una recente pubblicazione (1) e che qui riassumeremo brevemente.

Nel cane normale il pigmento sanguigno, messo in libertà

---

(1) A. Pugliese, « La secrezione e la composizione della bile negli animali smilzati » (*Policlinico*, vol. VI-M, 1899).

in virtù del potere emolitico del veleno, si deposita *specialmente nella milza*, e da questa viene portato rapidamente e direttamente al fegato per la vena porta. Le cellula epatica reagirà in principio con un maggiore lavoro, donde l'aumento nell'eliminazione della sostanza colorante biliare. Se a un cane con fistola biliare si dà un veleno del sangue in dose sufficiente, troveremo accrescersi notevolmente i pigmenti biliari nella bile. La prova poi indiretta, che alla distruzione globulare si accompagna un'aumentata produzione di bilirubina, si ha nell'accresciuta formazione di stercobilina e urobilina. Si può avere anche passaggio di pigmenti biliari nelle orine, ma la loro presenza nel secreto renale, non si può addurre senza altro come prova di un'aumentata eliminazione, poichè nella produzione del fenomeno entrano spesso anche altri fattori che possono dar luogo ad un riassorbimento della bile. Se poi la distruzione globulare dura a lungo, e specialmente se fu troppo intensa, allora le cellule epatiche diverranno insufficienti a trasformare l'eccesso di pigmento sanguigno che arriva al fegato, e la sostanza colorante del sangue passerà come tale nelle orine.

Ma tolta la milza, la sostanza colorante che i globuli rossi mettono in libertà per l'azione deleteria del veleno, *dovrà necessariamente deporsi in altre parti*, e in primo luogo nel *midollo osseo*, ossia su un campo molto più vasto. Inoltre la sostanza colorante non potrà più arrivare alle cellule epatiche che passando per la *circolazione generale*. Esso arriverà quindi al fegato *molto più frazionata*. Infine si deve considerare che la vena porta è il vaso che porta alle cellule epatiche il sangue che deve intrattenerne la *funzione*, mentre l'arteria epatica più che altro vi conduce il *nutrimento* necessario all'organo. Si comprende quindi come un materiale che traversi il fegato per la via della porta debba esercitare ben diversa influenza che se lo traversasse circolando per la arteria epatica. Forsanche trasformazione più profonda viene compiuta dal fegato sulla sostanza colorante del sangue che gli giunge frazionata e per via inconsueta e anormale, forse

invece di pigmenti biliari il fegato opera una più profonda elaborazione della quale finora ci sfugge il prodotto ultimo.

Pertanto, *coeteris paribus*, al fegato di un cane smilzato dovrà arrivare nell'*unità di tempo* minore quantità di sostanza colorante del sangue; il che è quanto dire che le cellule epatiche elaboreranno nell'unità di tempo minor quantità di pigmento biliare. L'esperienza dimostrò appunto che la bile dei cani smilzati è *più povera* in pigmenti biliari, e nuove ricerche non ancora terminate porterebbero pure uno di noi a conchiudere che un cane smilzato e operato di fistola biliare elimina bensì dopo avvelenamento con pirodina una bile più ricca in pigmenti biliari, ma l'aumento della parte colorante non è così grande come nel cane normale avvelenato con la stessa dose di sostanza, e detto aumento dura molto più a lungo.

Adunque con ogni probabilità il materiale resosi libero colla distruzione sanguigna arriva al fegato del cane senza milza *a poco a poco*, sicchè le *cellule epatiche hanno tempo ad elaborarlo*. Viene a mancare così la causa prima dell'emoglobinuria. Similmente la pleiocromia non è molto intensa, la bile non è eccessivamente densa, il circolo entero-epatico della bile non viene disturbato, non si ha riassorbimento di bile, e fa quindi difetto l'ittero e il passaggio nelle orine degli elementi della bile.

Una prova irrefragabile di questo asserto si ebbe, a nostro parere, nell'avvelenamento con toluilendiamina. Come si è visto, questa sostanza è per il cane più un veleno del fegato che del sangue, e il suo meccanismo d'azione non varia sia o no presente la milza. Quando la dose somministrata raggiunge il limite tossico, si manifesta in un caso e nell'altro l'ittero, e si ha passaggio nelle orine di gran quantità di pigmenti e acidi biliari. Fu appunto per non avere trovato alcuna differenza nella dose tossica, nei sintomi morbosi e nei caratteri delle feci e orine, che ci siamo astenuti dal riferire i risultati delle analisi praticate quotidianamente sulle feci e sulle orine di cani in condizioni normali e splenectomizzati,

prima e dopo avvelenamento con toluilendiamina. In ambedue i casi si ebbero gli esiti di un ittero da riassorbimenti prodotto certo da alterazioni del fegato, fra cui verosimilmente va annoverato in primo luogo un catarro delle più fini vie biliari, il quale otturandole generò ristagno e conseguentemente riassorbimento della bile.

Bologna, Novembre 1899.

Dottori **V. GRANDIS** e **C. MAININI**

STUDI SUI FENOMENI CHIMICI CHE HANNO LUOGO NELLA CARTILAGINE EPIFISARIA (*) DURANTE IL PERIODO DI ACCRESCIMENTO DELL'OSSO

(Tav. I)

L'istologia ha potuto determinare con abbastanza esattezza quali sono le modificazioni morfologiche subite dalla cartilagine per trasformarsi in sostanza ossea. Sappiamo, che quando le cellule cartilaginee seriate hanno raggiunto un determinato sviluppo, delle granulazioni calcari s'infiltrano tra le cellule, nell'interno delle capsule cartilaginee e nella sostanza cartilaginea fondamentale.

È noto pure che una delle condizioni necèssarie perchè la cartilagine possa trasformarsi in osso, pare, sia l'afflusso di sangue alla cartilagine stessa; tutte le cartilagini che debbono trasformarsi in osso prima si vascolarizzano. Koelliker (1) osservò che ciò avviene in tutte le età, tanto nella vita endouterina, quanto negli ultimi anni, prima che termini l'accrescimento, e che la vascolarizzazione appare appunto là, dove incomincierà la produzione del punto di ossificazione.

(*) Laboratorio di Fisiologia della Facoltà di Medicina di Buenos Aires.

(1) « Handbuch der Gewebelehre des Menschen », 6 Aufl., I Bd., 1889, pag. 319.

In base a questi dati è lecito indurre che la trasformazione della cartilagine in osso deve essere strettamente legata e dipendente dalla circolazione. Non riesce possibile però l'immaginare, come il sangue possa trasportare, allo stato di soluzione, composti così difficilmente solubili, come sono i fosfati di calce e di magnesia, quali sono i costituenti la più gran parte della massa ossea.

In queste condizioni è possibile farsi un concetto del fenomeno soltanto ammettendo, con Kühne (1) e Fokker (2), nel plasma sanguigno, che arriva alla cartilagine ossificantesi, la presenza di qualche corpo capace di tenere in soluzione i fosfati terrosi suddetti. Ora, se così fosse, perchè lo stesso plasma non dovrebbe, contemporaneamente ed anche in periodi ulteriori, quando cioè è compiuto il periodo di accrescimento, disciogliere quegli stessi corpi, che in altri tempi già teneva in soluzione? Nè meno oscura si farebbe la comprensione del fenomeno ammettendo che il plasma stesso sia sopra saturo di detti materiali, i quali si depositerebbero nelle ossa, finchè dura il periodo d'accrescimento; in questo caso dovrebbe, cessato l'accrescimento, cambiare considerevolmente la composizione del plasma sanguigno, o quanto meno, l'eccesso di questi sali terrosi dovrebbe depositarsi in altre parti oppure eliminarsi sotto una forma qualsiasi.

Nessuno di questi due fatti avviene, e neppure il cessare dello sviluppo è caratterizzato da fenomeni abbastanza importanti, per essere rilevabili con un sintomo esteriore qualunque. La cosa diventa anche più difficile a comprendersi ora, che le conoscenze fisico-chimiche ci hanno insegnato quanto grande sia l'influenza che porzioni, anche minime, di sali disciolti nel sangue esercitano sugli scambi osmotici tra gli elementi dei tessuti e sulla struttura degli elementi stessi del sangue.

Il desiderio di conoscere il processo di ossificazione, sotto

(1) « Lehrbuch der physiol. Chemie », 1868, p. 184.
(2) *Pflüger's Archiv*, Bd. 7, pag. 274.

il punto di vista speciale dell'origine della parte minerale, delle modalità, con cui essa si deposita e rimane dopo inalterata, finchè durano le condizioni normali, ci spinse ad intraprendere la serie di ricerche, di cui diamo in questa nota i risultati. Basandoci sopra l'insolubilità della parte minerale delle ossa, ci parve logico ricercare, innanzi tutto, quali condizioni si incontrano nello strato di cartilagine che prende parte attiva alla produzione del nuovo osso, e quale parte abbiano nella sua composizione chimica il fosforo e la calce, elementi necessari per costituire il fosfato tricalcico, composto che costituisce per sè solo l'83 % circa della sostanza ossea. Due casi sono possibili: la cartilagine ossificantesi funziona solamente come ricettacolo dei sali terrosi delle ossa, oppure contribuisce attivamente alla loro formazione, sia elaborando il materiale che vi affluisce, sia preparando il materiale stesso. In altri termini la cartilagine può essere attiva o passiva nell'ossificazione. Stando a quanto c'insegna la morfologia si deve ammettere una grande attività nella cartilagine ossificantesi, difatti essa subisce profondissime trasformazioni di struttura, le quali sono indubbiamente in strettissima relazione con il fenomeno della produzione dell'osso, perchè sono costanti ed uguali in tutta la serie dei vertebrati. Era fondato quindi il supporre che l'attività spiegata dagli elementi cartilaginei avesse qualche relazione col fenomeno chimico, di cui tale attività pare essere la causa determinante, cioè la deposizione dei fosfati terrosi. Tutte queste considerazioni ci fecero nascere l'idea di studiare il fenomeno, dal punto di vista dell'origine e di deposizione dei fosfati terrosi.

L'idea che ci parve più logica fu di studiare separatamente come si comporta il fosforo, e come si comporta la calce nella cartilagine attiva e nei punti d'osso neoformato, non potendo adattarci alla spiegazione, alquanto artifiziosa, che i fosfati terrosi dovessero circolare liberamente nel plasma, e deporsi precisamente soltanto là dove l'osso si forma, ci pareva più logico il pensare, che alla cartilagine in via di trasformazione arrivassero per vie diverse il fosforo e la calce e la magnesia

e che incontrandovisi, dessero luogo alla formazione del fosfato, il quale, per la sua grande insolubilità, si fissa nel tessuto, essendo impossibile la sua circolazione.

Questa fu l'idea movente e direttrice delle nostre ricerche che abbiamo condotto secondo le linee generali qui sotto indicate. Ricercare quale parte abbia il fosforo nella struttura chimica della cartilagine attiva e, stabilita questa, determinare reciprocamente quale sia la parte che spetta alla calce.

Se realmente l'osso si forma per deposizione dei fosfati terrosi, circolanti come tali nel sangue, i due componenti del fosfato terroso, cioè il fosforo e la base devono trovarsi dappertutto indissolubilmente legati, non solo, ma le loro quantità devono trovarsi nel medesimo rapporto, in cui entrano nella molecola del sale. La prima ricerca indicataci dalla natura del problema era perciò quella di determinare la presenza e la distribuzione d'uno dei componenti. Abbiamo preferito occuparci per prima del fosforo, sostanza che, per ricerche anteriori, le quali avevano indicato la via, è facilmente dimostrabile in modo evidente in tutti quei tessuti che la contengono. Le classiche ricerche di Schmiedeberg sulla composizione chimica della cartilagine ialina non avevano richiamato in modo speciale l'attenzione sopra una possibile importanza del fosforo nella composizione della cartilagine; poco aiuto potevamo quindi sperare da ricerche analitiche, miglior partito era ricorrere alle reazioni microchimiche.

Monti e Lilienfeld (1), sotto la guida di Kossel hanno arricchito la tecnica microscopica di una reazione, di grande valore biologico, colla quale è permesso di dimostrare in qual parte di un tessuto e dei suoi vari elementi va di preferenza a localizzarsi la provvista dei composti fosforati. Per questa prima parte quindi del nostro còmpito si presentava facile la via, e non ci rimaneva altro che applicare la reazione allo studio della cartilagine in via di ossificazione. Dovevamo completare in seguito la ricerca, studiando, se possibile, l'origine

---

(1) *Arch. italiennes de Biologie,* XIX, pag. 13.

della calce, la quale è noto abbondare nel plasma sanguigno non meno che in una grande quantità di tessuti e liquidi organici.

Abbiamo esteso la nostra ricerca a tutte le famiglie di vertebrati, di cui ci fu possibile procurarci esemplari: servirono di materiale per il nostro studio feti ed animali giovani delle specie di cui segue l'enumerazione: rana, muletia, cavia, coniglio, topo, gatto, cane, pecora, bue, uomo. Di questi abbiamo esaminato ossa lunghe ed ossa corte d'origine cartilaginea. Diremo tosto che il fenomeno osservato si manifestò sostanzialmente uguale in tutti gli animali e nelle differenti ossa; si notarono soltanto differenze quantitative, non mai qualitative. Nelle ossa destinate a subire un forte allungamento, prima di raggiungere lo sviluppo completo, le dimensioni dello strato cartilagineo in via di trasformazione sono più grandi ed in conseguenza più grande è lo spazio, in cui il processo si compie e più graduale è il passaggio, a cui vien dato assistere; nelle ossa invece, destinate ad aumentare di poco le loro dimensioni, il processo è condensato entro brevi limiti; esse sono perciò più adatte a dare un'idea comprensiva dell'insieme, mentre le prime si prestano meglio per un'analisi più minuta.

Questa costanza del reperto, mentre avvalora grandemente il risultato ne dispensa da una descrizione troppo dettagliata per le singole specie di animali, e facilita nello stesso tempo il còmpito della nostra relazione, permettendo di limitare la descrizione dettagliata al tipo generale osservato in tutti gli animali, ed in tutte le ossa. Ci riserbiamo di accennare in seguito le piccole differenze di dettaglio, osservate nelle varie specie, e ci dispensiamo dal descrivere le variazioni della forma presentantisi nella cartilagine, a misura che la si osserva in un punto più vicino a quello, dove avviene la prima deposizione dei sali calcari; questo studio morfologico non formava parte del còmpito che ci siamo proposto e fu egregiamente fatto dagli istologi; noi ci limiteremo a ricordare qua e là quel tanto che avrà stretta attinenza col processo chimico

che ci occupa, e che sia indispensabile per la miglior intelligenza di quanto dovremo riferire.

Abbiamo fatto le nostre osservazioni sopra pezzi freschi tagliati per congelazione, sopra pezzi fissati in formolo o sopra pezzi fissati in alcool; in tutti i casi però abbiamo adottato il sistema di tagliare per congelazione, e ciò allo scopo di far subire il minor numero di manipolazioni, ed evitare il rischio di ottenere dei risultati discordanti, dipendenti non dal fenomeno biologico, ma dai trattamenti fatti subire ai pezzi col sottoporli all'azione dei liquidi i quali potessero ostacolare la reazione, od agire più o meno intensamente, secondo la durata dei vari trattamenti, sulla quantità e natura delle sostanze componenti i tessuti. Ogni qualvolta fu possibile abbiamo perciò adottato il principio di studiare pezzi assolutamente freschi esportandoli sul momento da animali viventi.

Per comodità di descrizione divideremo in tre strati la cartilagine epifisaria, e distingueremo col nome di cartilagine in riposo la cartilagine normale, col nome di cartilagine attiva o seriata lo strato di cartilagine, dove le cellule si dispongono in colonne e col nome di strato di calcificazione quello più vicino all'osso.

L'abbondanza di fosforo che vi ha in una parte almeno delle sezioni, quella cioè dove già è formato l'osso, rende specialmente difficile l'ottenere dei buoni preparati colla reazione di Monti e Lilienfeld per l'abbondante precipitato, che si forma immediatamente, quando la sezione è passata nella soluzione nitrica di molibdato d'ammonio. La natura acida della soluzione decompone rapidamente una certa quantità dei fosfati terrosi, che già si trovano formati, dando luogo ad innumeri cristalli di fosfo-molibdato di ammonio, i quali si depongono nelle varie parti del preparato, vi aderiscono fortemente e si lasciano difficilmente esportare colla lavatura, di modo che rendono il preparato meno chiaro, impedendo di vedere bene quanto è avvenuto realmente nel tessuto sopra il quale si sono deposti.

Strato di cartilagine in riposo. — La sostanza fonda-

mentale od intercapsulare si mantiene perfettamente incolora (Fig. 1ª parte destra), si presenta perciò come una sostanza jalina, omogenea, trasparente con una leggerissima opolescenza lattescente; le capsule sono regolarmente disseminate ed appaiono generalmente come aree più trasparenti, dentro le quali si nota qualche volta un corpicciuolo di forma più o meno irregolarmente sferica o poliedrica, di una colorazione leggerissima, tendente all'azzurro brunastro, caratteristica dei composti fosforati sottoposti alla reazione del Monti e Lilienfeld. Il colore è tanto più intenso quanto più a lungo si lascia la sezione nel bagno acido di molibdato d'ammonio; nei preparati ben riusciti, come in quello riprodotto nella Fig. 1ª, le capsule appaiono solamente come aree chiare, dove non è possibile riscontrare alcuna parte che si differenzi per una colorazione qualsiasi, soltanto si vedono le trabecole di sostanza fondamentale, che separano tra di loro le capsule e le cellule comprese in ciascuna capsula. Dai preparati fatti in queste condizioni si riceve l'impressione come la cartilagine in riposo non contenga affatto fosforo, nè nella sostanza fondamentale nè nelle cellule capsulari, però dai preparati dove si lasciò agire più lungamente il molibdato di ammonio, come già ho detto, si deve concludere che i nuclei delle cellule cartilaginee contengono, come del resto secondo Monti e Lilienfeld i nuclei di tutte le cellule, una debole quantità di fosforo (Parte destra fig. 2ª).

Monti e Lilienfeld avevano già notato che variando il tempo, durante il quale agisce il molibdato di ammonio, variano alquanto i risultati che si ottengono. Essi attribuiscono ciò ad un'azione ossidante esercitata sui composti organici fosforati dall'acido nitrico, in cui è sciolto il molibdato, per cui, il fosforo organico, inetto a reagire col molibdato d'ammonio, viene in parte trasformato in acido fosforico, che in presenza del molibdato dà luogo al composto fosfo-molibdico, da cui ridotto si produce la colorazione nera. Questa spiegazione ha tutte le probabilità d'essere giusta, e quindi, tenendo debito conto di fatti da noi osservati, siamo portati a

concludere che nei nuclei delle cellule cartilaginee è presente bensì del fosforo, ma sotto una forma altamente complessa, per cui è necessario, che all'azione del molibdato proceda l'azione ossidante dell'acido nitrico, in cui il molibdato è sciolto. In ogni caso però la quantità di fosforo presente è sempre molto scarsa, perchè è sempre assai debole la colorazione bruna che ne risulta dopo che il fosfo-molibdato è stato ridotto dall'azione dell'acido pirogallico.

Strato di cartilagine attiva. — È bene dividere questo strato in due parti, una periferica in via di differenzazione ed una centrale differenziata. Nella prima, avvicinandoci al punto, dove le capsule cartilaginee tendono a prendere una posizione perpendicolare al piano di allungamento dell'osso, è noto dalla morfologia, che le capsule si ingrandiscono, aumenta il numero delle cellule contenute in ciascuna capsula e varia la forma delle cellule, le quali da tondeggianti, diventano allungate e si dispongono con l'asse maggiore parallelo al piano d'ossificazione.

La reazione del fosforo in questo punto si mostra già essenzialmente differente; anche una breve permanenza nella soluzione di molibdato è sufficente per determinare una colorazione bruna verdastra od azzurrognola intensa, la quale non si limita al corpo nucleare che segue la modificazione di forma subìta dalle cellule, ma invade anche, sebbene in grado minore, il citoplasma. Confrontando questo strato con lo strato di cartilagine in riposo, appare d'un tratto una differenza notevole nell'intensità della reazione, differenza la quale crediamo poter interpretare come dovuta ad un aumento notevole nella quantità di fosforo contenuta nelle cellule cartilaginee di questo strato.

La Fig. 1ª rappresenta il taglio di un osso corto, vertebra di muletia, ed è poco adatta per dimostrare questo passaggio, che appare più chiaramente nella fig. 2 procedendo da destra a sinistra. Come abbiamo già accennato sopra, nelle ossa, che sono destinate a subire un piccolo allungamento totale, tutti i fenomeni si compiono in uno spazio relativamente piccolo, restano

per così dire concentrati e non è possibile in esse un'analisi molto dettagliata di quanto avviene in questa prima parte, alla quale è soltanto concesso uno spazio relativamente molto piccolo. La colorazione della sostanza fondamentale in questa parte è alquanto meno chiara e trasparente, che non nella cartilagine in riposo, per cui nella immagine fotografica riprodotta dalla Fig. 1ª appare come una zona di una tonalità alquanto più carica che la limitrofa sostanza fondamentale, dello strato di cartilagine in riposo. Nella seconda parte completamente differenziata, le capsule cartilaginee prendono la classica disposizione a colonne fatte di una o più capsule, ingrandite e disposte perpendicolarmente al piano d'ossificazione, le cellule contenutevi diventano progressivamente più grandi, tende a scomparire la forma allungata in senso trasversale alla direzione della capsula, per far luogo ad una forma tondeggiante più o meno perfettamente sferica; cessa quella impressione, che si riceve dall'esame della parte prima descritta (fig. 2ª parte sinistra), cioè come se la capsula fosse troppo corta per contenere tutte le cellule che vi stanno dentro, e queste siano costrette a comprimersi per poter capir tutte nello spazio troppo corto loro concesso. A misura che procede questa trasformazione morfologica, procede pure la modificazione chimica, la quale già si era accennata nella parte prima descritta, che rispetto al punto di ossificazione è più periferica. La colorazione bruna verdastra si fa sempre più intensa e si accentua talmente anche nel citoplasma, che molto spesso difficilmente è possibile scorgervi dentro la forma nucleare; quando è visibile essa si distingue facilmente per una colorazione più intensa di quella del circostante citoplasma.

Questo aumento progressivo della colorazione e quindi della quantità di fosforo presente, che accompagna di pari passo l'aumento di volume subìto dal corpo cellulare, indica che nei fenomeni metabolici delle cellule si ha un vero immagazzinamento di fosforo, perchè quando così non fosse ingrandendosi le cellule, e quindi il volume in cui l'originaria quantità di fosforo può espandersi, se questa rimanesse costante si

avrebbe in una minor intensità della colorazione dovuta all'azione del molibdato là dove la cellula è più grande.

Le modificazioni morfologiche subìte dalle cellule cartilaginee, man mano che si vanno avvicinando allo strato di calcificazione, giungono fino al punto, che le cellule, le quali nella parte superiore dello strato, come abbiamo or ora descritto, si mostravano come compresse da una forza la quale agisse secondo l'asse di allungamento dell'osso, dopo aver assunto una forma sferica, mostrano tendenza ad acquistare un'altra volta una forma ovale, però allungata nel senso dell'asse d'accrescimento dell'osso, perpendicolare cioè alla direzione del diametro che nella parte superiore era più lungo.

Mentre stanno prendendo questa nuova forma la reazione del fosforo acquista la sua intensità massima; oltre questo punto, ben visibile nelle Figure 1, 2 e 3, che rappresentano la stessa disposizione a tre ingrandimenti differenti, comincia quello che abbiamo chiamato strato di calcificazione.

Prima di passare alla descrizione di questo terzo strato ci piace far notare, come in tutto lo strato di attività la sostanza fondamentale conservi a un dipresso la medesima intensità di colorazione; aumenta però la quantità di sostanza fondamentale. Le sottilissime trabecole, che separavano le cellule diventano più spesse e facilmente visibili, di modo che ogni cellula finisce per avere una capsula propria. La Fig. 3 mostra che la colorazione oscura non comprende tutto lo spazio, che le dimensioni della capsula ingrandita in tutti i suoi diametri concede alla cellula. La fotografia, a parer nostro, non rende bene quanto si può osservare sul preparato, dove appare chiaramente che il protoplasma si è coartato e raccolto attorno al nucleo, probabilmente, secondo noi, per azione del reattivo, lasciando una larga zona chiara, vuota, la quale appare sulla fotografia come un alone che lo circonda, dovuto alla mancanza di protoplasma colorato in quello spazio.

Da quanto abbiamo detto risulta che nello strato d'attività ha luogo nel protoplasma e nel nucleo un vero accumularsi di sostanza fosforata, o per lo meno, una trasformazione tale,

delle sostanze fosforate preesistenti nelle cellule dello strato di riposo, per cui il fosforo, che difficilmente si lasciava svelare in quello strato, qui diventa facilmente apparente per una breve azione del molibdato di ammonio. Si deve quindi per lo meno ammettere sempre in questo strato un'ossidazione dei composti fosforati altamente complessi, come sono quelli contenuti nelle nucleine; perciò la loro molecola si scinde, dando luogo a prodotti meno complessi e più facilmente attaccabili dagli ordinari reattivi dell'acido fosforico. Vedremo in seguito, come in considerazione della scarsa attività metabilica del tessuto cartilagineo sia questa ipotesi forse più logica, che non il supporre un accumulo di fosforo, di cui, dato il modo di nutrizione della cartilagine, sarebbe difficile rintracciare l'origine; vedremo pure come secondo questo modo di vedere sarebbe facilmente spiegabile non solo l'aumento di volume delle cellule cartilaginee, ma pur anche il fatto, che quando esse hanno raggiunto il loro volume massimo, presentano, per i trattamenti col reattivo molibdico, l'alone chiaro di cui sopra abbiamo tenuto parola.

Strato di calcificazione. — L'aspetto di questo strato della cartilagine, che costituisce, si può dire, il primo accenno dell'osso propriamente detto, differisce completamente da quanto si è visto negli strati sopra descritti (Fig. 3 parte destra). Morfologicamente questo strato è caratterizzato dalla sparizione quasi completa di ogni traccia di struttura organizzata; ciò può essere anche considerato come una citolisi ed una cariolisi completa. Ricchissima è la bibliografia a questo riguardo, nè ci pare qui opportuno dilungarsi su di essa, dal momento che nostro scopo è di descrivere soltanto i mutamenti chimici che in questo strato si osservano. Quando nello strato di cartilagine attiva l'aumento di volume delle cellule ha raggiunto il suo massimo, esse raggiungono delle dimensioni tre volte superiori a quelle che avevano nella parte più periferica del medesimo strato. Si direbbe inoltre che la sostanza fondamentale, invece di limitarsi a circondare le capsule, penetri nell'interno di esse per formare come un involucro a ciascuna cellula, co-

stituendole come una capsula speciale, la quale assume una tinta leggermente azzurra. Qui, dove incomincia lo strato di calcificazione, l'intervallo che separa una cellula dall'altra si fa talora molto grande, fino a raggiungere dimensioni uguali a quella del corpo della cellula. La colorazione, che serve da indice per svelare la quantità di fosforo contenuta nell'elemento, diventa alquanto più debole, ed una fine granulazione nera compare nell'interno della cellula e della capsula speciale ad ogni cellula. In questo punto la sostanza fondamentale assume man mano la colorazione caratteristica della presenza del fosforo, che si estende anche alle trabecole rigonfiate le quali separano fra di loro le singole cellule. La diminuzione d'intensità del colore bruno del corpo cellulare va di pari passo coll'aumento di colore che si nota nella sostanza fondamentale, si direbbe che il fosforo, il quale prima si trovava localizzato esclusivamente nel protoplasma cellulare e nel nucleo, sia uscito dalla cellula per diffondersi nella sostanza fondamentale. Non è raro incontrare degli spazi chiari, contornati da una zona bruna azzurra di sostanza fondamentale, i quali per posizione, forma e dimensioni rappresentano le nicchie entro cui stavano serrate le cellule (Fig. 3 parte mediana). Il fosforo, che sparisce dalle cellule, si raccoglie per la maggior quantità in quelle parti di sostanza fondamentale situate tra le colonne cellulari, questi intercolonnî raggiungono la massima intensità di colorazione in corrispondenza del punto dove cessano di vedersi distinte le cellule cartilaginee, dove compare l'aspetto granuloso delle cellule e comincia ad aversi uno strato duro per deposizione di sali terrosi. Come aspetto generale questa parte appare di una tinta meno carica di quella che si osserva nelle cellule, e ciò si comprende, essendo la quantità di fosforo, che prima stava localizzato in esse, distribuito in tutta la massa di sostanza fondamentale. Si può talora seguire per tratti relativamente molto lunghi, nell'interno dell'osso, questi intercolonnî di sostanza fondamentale (Fig. 3). Nel punto dove le cellule hanno perduto quell'intensità di colorazione bruna, che nelle parti superiori le differenzia dalla so-

stanza fondamentale, ciascuna di esse raggiunge un volume che talora è uguale al volume della capsula, nella quale era originariamente contenuta insieme con parecchie altre cellule ad essa uguali. È opportuno ritornare qui sopra l'alone che circonda il protoplasma raccolto attorno alla massa nucleare. Abbiamo detto già che l'esame del modo generale di comportarsi delle cellule cartilaginee lascia l'impressione, come se il protoplasma cellulare si fosse contratto ed avesse spremuto fuori dal suo interno una parte del suo contenuto. Mettendo questo fenomeno in relazione con quanto ci hanno insegnato gli studi di fisico-chimica fatti sul sangue, nasce spontanea l'idea che, in questo periodo della sua vita, il protoplasma della cellula cartilaginea contenga una quantità di liquido superiore a quella che conteneva negli strati superiori fin qui descritti, e vada come preparandosi ad una soluzione del suo corpo. Il decorso del modo di presentarsi della reazione del fosforo nei differenti strati, e sopratutto l'intensità e la rapidità colla quale la reazione compare nei vari punti, suggeriscono l'idea che i composti fosforati molto complessi i quali entrano nella composizione del nucleo e del protoplasma cellulare vadano progressivamente scomponendosi, dando luogo alla formazione di composti più semplici atti a reagire col molibdato di ammonio. Naturalmente questo processo chimico porta con sè la conseguenza, che una molecola complessa si scinda in due o più molecole più semplici, questa scissione trae, alla sua volta, come conseguenza necessaria un aumento della tensione osmotica nell'interno della cellula stessa, perchè è aumentato il numero delle molecole solide che vi si trovano, viene così ad essere turbato l'equilibrio osmotico che è ormai dimostrato esistere tra i tessuti dell'organismo ed i liquidi che lo bagnano. La necessità ineluttabile che questo equilibrio si conservi, fa sì che la necessaria quantità d'acqua passi dal plasma nell'interno della cellula cartilaginea e questa si gonfi come realmente avviene. Quando poi, per la necessità della reazione, che noi dovevamo praticare per lo studio del fenomeno, il protoplasma veniva in contatto con soluzioni d'una concen-

trazione molecolare superiore alla sua, cedeva a quelle una parte della sua acqua e la parte insolubile doveva raggrinzarsi, lasciare attorno a sè uno spazio libero, dando così luogo alla formazione dell'alone.

È possibile che l'alone si incontri già nelle condizioni normali e la spiegazione non diviene perciò meno verosimile. Il fosforo, ridotto per la scomposizione della molecola complessa in composti più semplici, acquista la facoltà di potersi combinare facilmente colla calce circolante, sempre abbondantemente presente nel plasma sanguigno, e forma un composto insolubile, nello stesso modo come lo può formare col molibdato di ammonio nella reazione di Monti e Lilienfeld. La formazione di un composto insolubile porta con sè una diminuzione della tensione osmotica nell'ambiente, dove il composto si forma, perchè diminuisce il numero delle molecole disciolte, quindi l'eccesso di liquido, il quale si raccoglie nelle capsule facendole rigonfiare e dando loro l'aspetto come se fossero piene di liquido.

Oltre al decorso della reazione col molibdato d'ammonio, che da negativa nella cartilagine in riposo non solo si fa positiva, ma diventa anche rapida nello strato di attività e di calcificazione, sta in appoggio di questa interpretazione il fatto costantemente osservato, che l'alone presenta esattamente la stessa forma dell'ammasso protoplasmatico da cui è circondato.

Questo è quanto ne viene suggerito dall'esame di un numero considerevole di pezzi, tolti da differenti famiglie di vertebrati, nessuna di esse mostrò differenze d'ordine generale tanto notevoli da meritare una descrizione dettagliata del reperto, solo vogliamo ricordare che il calcagno dell'agnello si è presentato più adatto per seguire passo passo la trasformazione descritta nella costituzione chimica della cartilagine, perchè le cellule hanno una grandezza considerevole e formano colonne di una lunghezza molto più grande che non quelle di altri animali studiati. Le differenze principali esistenti, tanto fra animali della stessa specie come fra indi-

vidui di specie differenti, sono tutte dovute ai rapporti tra il volume delle colonne cellulari e gli intercolonnî di sostanza fondamentale, ed alla quantità di questa sostanza, che separa ciascuna cellula, nel punto in cui questa lascia diffondere il fosforo cui conteneva in sè racchiuso.

Quando le cellule sono molto allontanate fra di loro nel senso della direzione dell'asse delle colonne, la distanza non è dovuta a sostanza fondamentale interposta, la quale in questa direzione si trova sempre in quantità assai piccola, ma all'ampiezza della capsula; quindi, secondo l'interpretazione data, dipenderebbe dalla quantità di fosforo organico sdoppiatosi.

I fatti fin qui descritti permettono di concludere che la cartilagine epifisaria modifica profondamente la sua composizione chimica, nel punto dove pure avvengono le ben note modificazioni morfologiche. L'abbondanza di composti fosforati limitata alla zona attiva, fa vedere che il fosforo esercita una funzione importante nel processo di ossificazione.

La sua presenza in parti completamente prive di calce, la complessità decrescente delle combinazioni fosforate delle cellule man mano che esse si avvicinano al punto dove incominciano a deporsi i sali calcari e la quantità sua crescente nello stesso senso ne eccitarono potentemente a tentare un passo ulteriore, che ci permettesse di tirare delle conclusioni ragionevolmente fondate sulla funzione delle cellule cartilaginee e sulla prima origine dei sali terrosi che compongono le ossa. Rivolgemmo perciò il nostro studio alla ricerca di un metodo, col quale si potesse determinare la distribuzione dei composti calcari, nello stesso modo come il processo di Monti e Lilienfeld ci aveva permesso di studiare la distribuzione dei composti fosforati. Il risultato delle nostre ricerche tecniche, in questo senso, fu comunicato all'Accademia dei Lincei in Roma nella seduta del 4 febbraio 1900; a quella pubblicazione ci riferiamo per la dimostrazione dell'attendibilità del metodo.

Qui ci limiteremo a dire in succinto su qual principio esso si fondi e come si eseguisca. Ci siamo valsi della proprietà che hanno alcune sostanze coloranti, fra cui specialmente l'ali-

zarina e la purpurina, di precipitare in presenza del cloruro di calce, dando un composto insolubile in acqua ed in alcool.

Questa proprietà fa sì, che nei pezzi opportunamente trattati, tutti i punti dove si trovano dei sali di calcio si colorino in un colore rosso intenso, resistente, mentre le parti organiche dei tessuti rimangono incolori. Il metodo da noi seguìto consiste nell'immergere le sezioni dei pezzi da studiarsi tagliate a fresco o fissate in alcool, in una soluzione satura di purpurina (questa serve assai meglio che l'alizarina).

In questa soluzione si lasciano finchè abbiano assunto una colorazione intensamente rossa, basta per questo un tempo variabile da 5-10 minuti. Da questa soluzione si passano in una soluzione fisiologica di cloruro di sodio al 0,75 $^{0}/_{0}$, allo scopo di produrre per doppia decomposizione, delle traccie di cloruro di calcio, destinato a precipitare la sostanza colorante sotto forma insolubile in quei punti, dove vi sia presente un sale di calcio.

Bastano pochi minuti di questo trattamento, il quale, secondo le condizioni, si può talora ommettere perchè ha solo la funzione di rendere più viva la colorazione, giacchè nei tessuti sempre si trova abbastanza cloruro-sodico per dar luogo alla reazione.

Dopo si passano le sezioni in alcool a 70° e vi si lasciano, rinnovandolo due o tre volte, finchè il tessuto cede ancor sostanza colorante all'alcool, giunto a questo punto si disidrati, si fissi, ed all'esame si vedrà che tutti i punti, dove si trovavano depositati dei sali di calcio, si mostrano intensamente colorati in rosso in mezzo al tessuto incoloro. Abbiamo applicato questa reazione sopra preparati di cartilagine epifisaria di varie specie di animali, come avevamo fatto per il fosforo, ed abbiamo ottenuto qui pure un risultato altrettanto costante come per il fosforo.

La Fig. 4 riproduce una fotografia di un preparato fatto sopra una falange di un bambino, la parte chiara a destra corrisponde alla cartilagine epifisaria, nella quale si vedono, specialmente nella parte inferiore, degli elementi disposti in

serie leggermente colorati, la parte oscura corrisponde all'osso neo-prodotto, e segna il punto limite, fin dove la deposizione di sali calcari si estende.

Colpisce la regolarità, con cui è limitata la deposizione verso la cartilagine; in tutti i preparati si vede, appare del resto pure dalla fotografia, che i sali calcari cominciano a fissarsi precisamente là, dove nella preparazione col molibdato d'ammonio cominciano a scolorirsi gli elementi cartilaginei, ed a colorarsi le trabecole di sostanza fondamentale. L'esame della Fig. 4 dispensa da qualunque descrizione, e mostra come il processo decorra regolare in tutta la sezione dell'osso. Noteremo per incidente che la quantità dei sali di calcio, depositati in immediata vicinanza del periostio, che costituisce la parte inferiore della fotografia, è molto più abbondante e la loro deposizione più compatta che non vicino alle colonne cartilaginee. Là dove le cellule si rigonfiano, perdono il colore nero per fosfo-molibdato, che avevano assunto nello strato di cartilagine attiva e cominciano a prendere un aspetto granuloso, si può colla purpurina, come pure con il pirogallolo, svelare la presenza di sali di calcio, negli altri punti della cartilagine mancano completamente. Collegando questi reperti con quello del fosforo, di cui abbiamo dettagliatamente riferito nelle pagine anteriori e col fatto che in tutte le cartilagini ossificanti si forma prima una vascolarizzazione, dobbiamo concludere che i fosfati di calce i quali pei primi si depositano a formare l'osso, sono prodotti da una reazione che si compie sul luogo stesso della loro deposizione.

Il fosforo e la calce necessaria per questa reazione hanno origine differente, il fosforo proviene da scomposizione delle molecole organiche complesse, in cui entra a formare parte del carioplasma e del citoplasma, mentre la calce viene portata dal plasma sanguigno e da questo precipitata, per il fosforo presente nelle capsule e nelle trabecole, in contatto con le cellule cartilaginee.

Spiegazione delle Figure.

Fig. 1. — Sezione di una vertebra di muletia di 22 giorni trattata con la reazione di Monti e Lilienfeld. La reazione si è localizzata esclusivamente nelle cellule seriate dello strato di cartilagine attiva, la cartilagine in riposo, parte destra della figura, è completamente incolora.

Fig. 2. — Sezione di testa del femore di un gattino neonato reazione del fosforo, la parte destra della figura rappresenta la cartilagine in riposo, in cui, per la lunga azione del molibdato d'ammonio si sono colorati leggermente i nuclei delle cellule cartilaginee. Nella parte sinistra dove si vede il passaggio allo strato di cartilagine attiva il colore della sezione più intenso indica la maggior abbondanza di fosforo.

Fig. 3. — Sezione di testa del femore di un gattino neonato. Mostra nel mezzo lo strato di calcificazione, la citolisi, il diffondersi della colorazione alla sostanza fondamentale della cartilagine la quale prende un colore più scuro che le capsule, si nota inoltre un alone più chiaro che circonda la sostanza cellulare in cui è localizzato il fosforo.

Fig. 4. — Reazione della purpurina per delimitare i sali di calcio in una testa di falange di un bambino non rachitico. A destra si vede che la calce ha precipitato fortemente la purpurina. Il limite fin dove arriva la calce verso la cartilagine è nettamente marcato verso sinistra. La forte linea nera verso il basso della figura rappresenta il limite verso il periostio in basso ed a sinistra conservatosi incoloro.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 3.

Dottori **V. GRANDIS** e **C. MAININI**

DELLE ALTERAZIONI

CHE

IL RACHITISMO DETERMINA NEI PROCESSI METABOLICI

DELLA CARTILAGINE EPIFISARIA (*)

(Tav. II)

Nella nota precedente, sui fenomeni chimici che hanno luogo nella cartilagine epifisaria, abbiamo dimostrato che le modificazioni morfologiche dello strato di cartilagine in via di ossificazione sono accompagnate da sostanziali cambiamenti nella costituzione chimica delle cellule cartilaginee. Queste acquistano la funzione di accumulare e forse preparare composti fosforati, capaci di reagire sulle sostanze calcari circolanti col plasma sanguigno, dando luogo a composti calcari insolubili, i quali formano il primo substrato di sostanza minerale che rappresenterà poi il nuovo osso completamente sviluppato. Il risultato cui ci condusse l'applicazione combinata della reazione di Monti e Lilienfeld e della nostra reazione dei sali calcari nei tessuti, allo studio dell'ossificazione, ci parve abbastanza interessante, per giustificare il nostro desiderio di conoscere come il fenomeno decorresse nel rachitismo. Nutrivamo la speranza di ottenere da queste ricerche un criterio, sia pure indiretto, per stabilire se le modificazioni da noi osservate nei fenomeni metabolici della cartilagine,

(*) Laboratorio di Fisiologia della Facoltà di Medicina di Buenos-Aires.

durante il decorso normale dell'ossificazione, fossero semplicemente un epifenomeno accidentale, ovvero, come eravamo fortemente inclinati a credere, costituissero qualche cosa di fondamentale connesso e, per così dire, necessario alla produzione dell'osso propriamente detto. Siamo dolenti che la condizione speciale delle cose ci abbia impedito di estendere, come sarebbe stato nostro desiderio, la ricerca di un gran numero di soggetti affetti da tale malattia, e ci abbia costretto a limitarle alle ossa di un solo individuo. Abbiamo cercato di compensare il deficiente numero di osservazioni coll'aumentare il rigore nell'applicazione dei metodi, e col moltiplicare le preparazioni eseguite sull'unico caso, di cui potevamo disporre, in tutte le poche ossa che ci fu dato studiare.

Questa condizione di cose ci impedisce di generalizzare le conclusioni del nostro lavoro a tutti i casi di rachitismo e di stabilire, se realmente esiste una sola specie di rachitismo, oppure ne esistano più d'una, in rapporto colle diverse fonti da cui l'osso in via di formazione trae i materiali per la sua costituzione. Pubblichiamo ciò nondimeno i risultati ottenuti in considerazione del principio che anche un solo fatto positivo qualsiasi, quando è rigorosamente stabilito, ha un valore che non può a meno di essere tenuto nel debito conto. Ottenemmo il materiale per le nostre osservazioni dalla *Casa de espositos* del Municipio di Buenos-Ayres, esso consisteva nelle epifisi inferiori del femore, e superiori della tibia e del perone di un bambino rachitico, i quali erano da una settimana conservati in formolo.

Il metodo adoperato per lo studio è quello stesso, di cui abbiamo fatto cenno nella nostra relazione precedente sul processo di ossificazione normale, e ponemmo una cura speciale nel confrontare sempre i risultati ottenuti con quelli ricavati dall'esame di una falange d'un bambino affatto immune da quella malattia. Anche qui lascieremo da parte tutti quei dati della morfologia patologica, che non possano contribuire alla intelligenza del fenomeno chimico che ci occupa, e descriveremo nelle seguenti righe quanto abbiamo potuto osservare in tutte le numerose preparazioni fatte.

La reazione col molibdato d'ammonio si mostrò determinare nelle epifisi delle ossa rachitiche in via di sviluppo una colorazione irregolare brunastra od azurrastra sopratutto della sostanza fondamentale della cartilagine, la quale presenta l'aspetto come d'un campo omogeneo, in cui sono disseminate delle cellule prive di capsula con forma irregolarmente allungata.

Nello strato di cartilagine in riposo il nucleo delle cellule ne costituisce la parte più spessa, ed il corpo cellulare, il quale rappresenta quasi un'appendice del nucleo, è leggermente colorato in un azzurro od in bruno appena alquanto più marcato della colorazione della sostanza fondamentale. La Fig. 3 rappresenta una parte di quello che abbiamo chiamato nella nota precedente «Strato della cartilagine attiva» ed i suoi limiti collo strato di calcificazione in un bambino non rachitico, mentre la Fig. 1 rappresenta una porzione di epifisi superiore della tibia del bambino rachitico in vicinanza del punto dove si ha deposizione di sali calcari. Amendue le figure sono ottenute fotografando collo stesso obbiettivo e colla stessa dimensione della camera preparati che avevano subìti i trattamenti per mettere in evidenza il fosforo contenuto, col mezzo del molibdato di ammonio. Un colpo d'occhio gettato sulle due figure dice subito quanto sono differenti i risultati che si ottengono nei due casi; nella descrizione cercheremo di completare quanto le figure non possono dimostrare e, che pure appare evidente dai numerosi preparati fatti. Nella parte periferica, rispetto all'osso, o strato di cartilagine in riposo, del rachitico le cellule sono assai piccole, più scarse che nel normale, raramente accoppiate due o più insieme, ed assai spesso è tanta la sproporzione tra un diametro e l'altro della cellula, che esse prendono un aspetto come filiforme.

In punti corrispondenti a quelli che nel normale rappresenterebbe il passaggio dalla cartilagine allo stato di riposo alla cartilagine attiva, il numero delle cellule aumenta in modo considerevolissimo, esse si raggruppano in ammassi numerosi, in cui si contano da 10-20 cellule, le quali non sono pressochè

mai disposte in serie regolarmente perpendicolari ad uno stesso piano, come si osserva nelle cartilagini di un individuo normale. Gli ammassi sono per lo più appaiati, ed il volume del corpo cellulare è solo leggermente più grande di quello delle cellule della cartilagine in riposo. L'aumento pare avvenga specialmente a spese del nucleo, il corpo delle cellule cessa di essere filiforme, ma conserva una forma irregolare per lo più allungata in direzione perpendicolare alla direzione della serie. Le colonne cellulari che fanno seguito a questo primo strato di passaggio, dove la sostanza fondamentale, contrariamente a quanto avviene nel normale, si mostrò meno intensamente colorata in azzurro, hanno forma irregolare, le cellule che le compongono non sono disposte tutte su di una serie, ma si seguono spesso alternandosi ora in serie unica, ora in serie duplice. La colorazione azzurra non si estende a tutto il corpo della cellula, ma si limita specialmente al nucleo, generalmente eccentrico e di forma molto irregolare esso pure. In questo punto gli intercolonnî di sostanza fondamentale molto più scarsi riprendono la colorazione azzurra intensa che già avevamo incontrato nella sostanza fondamentale in riposo, e le cellule nella prima parte specialmente, non mostrano alcuna tendenza a provvedersi ciascuna di una capsula propria che li separi fra di loro.

A questo primo periodo ne subentra un altro, in cui le cellule vanno a poco a poco fornendosi di una capsula propria, che in rapporto alla loro irregolare disposizione in serie forma una rete, le cui maglie non hanno alcuna direzione caratteristica, ma irregolarissima; ne viene che gli spazi di sostanza fondamentale, da cui le colonne cellulari sono fra loro separate, prendono una forma irregolarmente stellata con numerosissime ramificazioni variamente dirette.

Parallelamente alla direzione di ciascuna maglia si incontra sempre nell'interno un corpo di forma irregolarmente raggrinzata, fortemente rifrangente, fornito di una debole colorazione azzurra, separato per un ampio spazio chiaro dalle pareti della capsula, e che rappresenta senza dubbio il nucleo della cellula cartilaginea in essa contenutavi.

Il volume del corpo colorato che s'incontra nell'interno si presenta sempre molto più piccolo di quanto sia il corrispondente dello stato normale, la sua colorazione è molto meno intensa, paragonabile a quella delle cellule dello strato di cartilagine in riposo nel normale; nè mai succede, neppure nei punti che si trovano in immediato contatto colla parte calcificata che dimostri una tendenza a diffondersi la colorazione del nucleo dove gli spazi di sostanza fondamentale si mostrano assumere la colorazione caratteristica del fosforo.

Nessun rapporto appare qui esistere tra il fosforo contenuto nella sostanza fondamentale e quello scarsissimo contenuto nelle cellule cartilaginee, nella cartilagine epifisaria degli individui normali invece si mostrava chiaramente una produzione o per lo meno un accumulo di fosforo negli elementi cellulari, seguito più tardi con una diffusione di questo corpo alla sostanza fondamentale. Nel caso da noi studiato la sostanza fondamentale è sempre molto più ricca di fosforo che non le cellule cartilaginee, nè mai fu possibile riscontrare traccia di un processo citolitico qualsiasi, che ricordi quanto nella nota sul processo d'ossificazione normale abbiamo descritto avvenire nello strato di calcificazione.

Nella nota precedente abbiamo detto che nelle sezioni di cartilagine, trattate con la purpurina, secondo il nostro metodo per determinare i punti dove si trovino presenti dei sali di calce, la deposizione di questi, nei casi in cui il processo di ossificazione decorre in modo normale, comincia ad apparire in modo regolarissimo secondo una linea che corrisponde a quella in cui appare il disfacimento della cellula cartilaginea e si comincia ad avere la colorazione caratteristica della reazione del fosforo nella sostanza fondamentale situata tra le colonne cellulari.

La Fig. 4 riproduce la fotografia d'un preparato eseguito in questo modo sopra una falange di un bambino non rachitico. Questa regolare e costante coincidenza dei due fenomeni ci aveva indotto a concludere che nella formazione dell'osso normale la cartilagine prepara il fosforo in condizione tale da

poter reagire sulla calce che circola col sangue, e da determinare la precipitazione di fosfato tricalcico insolubile, dando luogo all'osso, qual siamo abituati a considerarlo dal punto di vista chimico. È generalmente ritenuto dai patologi e dai clinici che il rachitismo sia causato da una deficente assimilazione e fissazione dei sali calcari degli alimenti per parte degli elementi della cartilagine epifisaria in istato di ossificazione. Troppo lungo sarebbe il citare tutta la serie di studi intrapresi per dimostrare coll'osservazione diretta o collo esperimento, questa ipotesi, generata certamente dal sintomo più saliente del rachitismo, cioè dalla poca resistenza delle ossa rachitiche, incapaci a sopportare il peso del corpo.

Taceremo parimenti di tutti i tentativi di determinazione del ricambio dei sali calcari nel rachitismo, perchè essi non poterono finora mostrarsi tanto concordanti da autorizzarne a tirare una conclusione fondata su dati rigorosamente esatti e costanti. Vogliamo tuttavia ricordare i lunghi e accurati studi del Weiske (1), dai quali appare la grande difficoltà dell'argomento, e la complessa natura dei fenomeni da cui il processo di ossificazione dipende.

Non possiamo neppure passare sotto silenzio un fatto sperimentale, noto già da lungo tempo, che lasciava supporre doversi ricercare la causa del rachitismo altrove che nella deficenza dei sali calcari. È noto che i giovani uccelli granivori diventano rachitici quando sono alimentati con carne, e viceversa i carnivori lo diventano quando sono nutriti con sostanze amidacee. Kassowitz (2) aveva trovato che in molti casi il rachitismo migliora grandemente somministrando dei preparati fosforati, il fatto era ben constatato, ma non era possibile trovarne la ragione scientifica.

Le ricerche fatte applicando la reazione del fosforo, di cui abbiamo riferito sopra sommariamente i risultati, ci permettono fin d'ora di concludere che nel rachitismo è grandemente

(1) *Zeitschr. f. Biologie*, Bd. IX e X, XXXI. — *Journal f. Landwirtsch.*, Bd. XXXIII, e Bd. XXIX.

(2) *Zeitsch. f. klin. Medizin*, Bd. 7, 1, pag. 36 e Bd. 7, 2, pag. 93, 139.

anomala la distribuzione del fosforo nelle varie parti della cartilagine epifisaria. Avendo a nostra disposizione un metodo, col quale è possibile determinare la distribuzione dei sali calcari (1) nei vari tessuti dell'organismo, era naturale che ci prendesse la curiosità di applicare questa reazione allo studio delle ossa rachitiche allo stesso modo come lo avevano applicato nel processo di ossificazione normale. Il risultato da noi ottenuto è chiaramente dimostrato dalla Fig. 2, riproduzione di una fotografia ottenuta da una sezione di cartilagine epifisaria del bambino rachitico di cui abbiamo ricavati i risultati or ora riferiti.

Le parti scure della figura rappresentano i punti dove è depositata la calce, che per effetto dell'azione della purpurina si sono colorati in rosso porpora intenso. Confrontando questa figura colla sottostante Fig. 4, immagine di quanto avviene nella cartilagine epifisaria del bambino non rachitico, abbiamo dovuto concludere, che non è certamente la calce quella che faccia difetto al rachitico, essa esiste, si direbbe, in maggior abbondanza che nei casi normali, è però fortemente anomala la sua distribuzione. Nel rachitico neppure un accenno a quella regolarità con cui normalmente i sali di calce depositano al limite dello strato di cartilagine attiva, la calce esiste abbondante, si depone però in modo anormale. Un esame più accurato dei preparati così ottenuti, ed un confronto coi preparati alla Monti e Lilienfeld ci permette di rilevare dei fatti molto interessanti per la conoscenza della natura del rachitismo.

Nel descrivere il reperto da noi ottenuto coll'applicare alle ossa rachitiche la reazione per la localizzazione del fosforo, abbiamo fatto notare, che la quantità di fosforo nelle cellule cartilaginee differenziate è enormemente scarsa, rispetto alla quantità che s'incontra nello stato normale, mentre in alcuni punti è fortemente colorata da quella reazione la sostanza fondamentale ed abbiamo detto che queste isole di sostanza hanno una forma irregolarmente stellata.

(1) *Rendiconti della R. Accademia dei Lincei*, seduta del 4 febbr. 1900.

Confrontando la posizione e l'aspetto di quelle isole, allora descritte, colla posizione dei punti dove appare presente la reazione dei sali calcari, si vede tosto che i due si corrispondono esattamente: le chiazze diventate più intensamente azzurro brunastre per l'azione del molibdato d'ammonio, sono precisamente quelle che si sono fatte intensamente rosse per l'azione della purpurina.

Talora si incontrano di queste chiazze, isolate completamente in mezzo alla cartilagine, ad una distanza relativamente grande dal limite estremo, che divide l'osso dalla cartilagine propriamente detta, allo stesso modo come si incontrano delle chiazze, fatte oscure per la reazione del fosforo, in punti situati molto a dentro nella cartilagine.

Abbiamo detto altrove, trattando dell'ossificazione normale, che dietro i risultati ottenuti noi non sappiamo spiegarci il fenomeno dell'accrescimento delle ossa altrimenti, che ammettendo una fissazione della calce circolante per opera del fosforo, accumulato dalle cellule cartilaginee. A questo dobbiamo perciò attribuire la massima importanza nella formazione dell'osso; nel rachitico le cellule non preparano e non elaborano i prodotti fosforati degli elementi; il fosforo, invece che nelle cellule è contenuto soltanto nella sostanza fondamentale, a cui finora non sappiamo in che modo arrivi; è appunto nella sostanza fondamentale della cartilagine dove viene a fissarsi la calce, indipendentemente da qualunque stadio di evoluzione, in cui possano trovarsi gli elementi cartilaginei. Questa a nostro modo di vedere è la miglior conferma di quanto abbiamo detto relativamente all'origine ed al modo di prodursi della parte minerale delle ossa; praticamente poi il risultato cui fummo condotti dalle nostre ricerche vale a dare una base scientifica al fatto empirico, conosciuto dai clinici, riguardante il benefico effetto del fosforo nel trattamento del rachitismo e risponde chiaramente alla domanda formulata da **Miwa** e **Stölzner**(1) se il trattamento del rachitismo coi composti fosfo-

---

(1) *Jahresber. f. Kinderheilkunde*, Bd. 47, pag. 153.

rati abbia un fondamento scientifico. Nel caso da noi studiato il rachitismo era dovuto senza dubbio ad una alterazione quantitativa e qualitativa della distribuzione del fosforo nella cartilagine, mentre la quantità dei sali calcari era certamente almeno uguale a quello, che si ha nelle condizioni normali.

In questo caso adunque, come probabilmente in tutti quelli, nei quali furono viste inalterate le condizioni del ricambio dei sali calcari, l'origine del rachitismo va ricercata in un'alterazione dell'assorbimento e preparazione del fosforo, e perciò, con ogni probabilità, in un alterazione di funzione dei nuclei, perchè è in loro dove si trovano più abbondanti quei composti organici, altamente differenziati, che sono caratteristici per contenere nella loro molecola una quantità considerevole di fosforo.

Spiegazione delle Figure.

Fig. 1. — Reazione del fosforo praticata sopra un pezzo di sezione dell'estremità superiore della tibia di un bambino rachitico. È notevole la scarsissima quantità di fosforo esistente nelle cellule cartilaginee seriate e la quantità relativamente abbondante esistente nella sostanza fondamentale.

Fig. 2. — Reazione dei sali di calcio, in una sezione prossima a quella della fig. 1; calce abbondante, irregolarmente distribuita, nell'isola di sostanza fondamentale.

Fig. 3. — Falange di bambino non rachitico, sezione mostrante la reazione del fosforo in prossimità dello strato di calcificazione.

Fig. 4. — Falange di bambino non rachitico, reazione dei sali di calce colla purpurina. La calce si limita tanto verso la cartilagine (parte sinistra), quanto verso il periostio (in basso a sinistra), secondo una linea netta e regolare.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 4.

Istituto Patologico della R. Università di Padova.
(Prof. Augusto Bonome).

CONTRIBUTO ALLA PATOGENESI DELLA EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA

DEL

Dott. **Ettore CHIARUTTINI**

La maggior parte degli Autori che si occuparono della patogenesi della emoglobinuria essenziale parossistica sentirono il bisogno di ammettere che la composizione del sangue di questi pazienti debba essere in qualche modo alterata anche fuori degli accessi. La prova però di questo fatto si ebbe solo dalle più recenti ricerche ematologiche, ed è ancora questione se la alterazione del sangue, che preesiste all'accesso, sia propriamente nel plasma oppure nei globuli.

È noto che la teoria di una primitiva alterazione dei globuli ha avuto ed ha ancora sostenitori valenti (Murri, Ehrlich, Robin, Schwostek). — Murri (1880) e poi Ehrlich (1881) avendo dimostrato che il sangue degli emoglobinurici, estratto dal lobulo di un orecchio o da un dito raffreddato artificialmente, presenta le più svariate forme di alterazione globulare, come durante l'accesso, ritennero, da prima, di aver dato la prova che i globuli rossi di questi pazienti sono anormalmente vulnerabili al freddo. Ma essendosi poi venuto a sapere che, oltre al freddo, una intera serie di altri agenti

può, in individui che devono ritenersi a ciò predisposti, provocare l'accesso di emoglobinuria, tanto il Murri come l'Ehrlich modificarono la loro prima opinione con questo divario che il Murri mantenne ancora il concetto di una primitiva alterazione dei globuli, mentre l'Ehrlich, considerando che *in vitro* non è dimostrabile una diminuita resistenza dei globuli nè al freddo nè all'acido carbonico, si decise ad ammettere che negli emoglobinurici, sotto l'azione del freddo e di altre circostanze, i vasi producano speciali fermenti che agendo sul discoplasma globulare ne determinano la dissoluzione.

Più recentemente Schwostek (1894) (1) pretese di aver data la prova che i globuli del sangue di questi pazienti presentano effettivamente una diminuita resistenza di fronte agli agenti meccanici, per cui dato un disordine idraulico (stasi) in qualche parte del circolo, avviene qui il disfacimento di alcuni globuli la cui emoglobina rimane sciolta nel plasma. Le conclusioni di Schwostek sono basate sulle seguenti esperienze fatte col sangue di un emoglobinurico:

Il sangue estratto da una vena alla piega del cubito, senza precedente legatura del braccio (per evitare la stasi), viene da lui raccolto in due diversi tubi; uno di questi è posto subito in ghiaccio, evitando con cura ogni scuotimento; l'altro è agitato bruscamente. Avvenuta la coagulazione nei due tubi, il siero del sangue contenuto nel tubo (non agitato) è completamente limpido, giallo chiaro; invece quello del secondo tubo (agitato) è distintamente emoglobinico. Nelle esperienze di controllo col sangue di individui sani non trovò alcuna sensibile differenza di tinta fra il siero che si separava da un sangue agitato e quello proveniente da un sangue non agitato.

In un'altra interessante esperienza Schwostek ad un emoglobinurico, fuori dell'accesso, toglie sangue da una vena alla piega del cubito del braccio sinistro, previa una stretta

---

(1) « Ueber das Wesen der paroxysmalen Hämoglobinurie », Lipsia, 1894.

legatura del braccio, fatta con un cordone di kautscouk, fino al punto da rendere l'arto cianotico e dolente (esperienza di Ehrlich, meno l'immersione dell'arto nel ghiaccio). Dal braccio destro estrae un altro campione di sangue, ma senza previa legatura. I due saggi appena ottenuti sono posti in ghiaccio e lasciativi per 24 ore. Trascorso questo tempo si trova che dal sangue proveniente dal braccio non legato si è separato un siero limpido, di colore normale, invece il siero del sangue proveniente dal braccio precedentemente legato ha un colorito più carico, giallo-rosso.

Da queste esperienze Schwostek conclude (con quanto diritto vedremo poi) che i globuli rossi degli emoglobinurici presentano abitualmente una anormale vulnerabilità alle influenze meccaniche (compressione del sangue entro i vasi in conseguenza della stasi artificiale). — Qualunque sia il valore delle esperienze di Schwostek, non esistono all'infuori di esse altri fatti che abbiano valore dimostrativo per la teoria di una primitiva alterazione dei globuli.

D'altro canto una lunga serie di ricerche sperimentali, specialmente della scuola di Dorpat, ed alcune inappuntabili osservazioni sul plasma del sangue degli emoglobinurici (di Hayem e di Viola) hanno fatto sì che da circa un decennio la importanza del plasma nella genesi del fenomeno della emoglobinuria è andata sempre aumentando. Dalle ricerche sperimentali è risultato che la emoglobinuria è in generale dovuta ad una modificazione della proporzione dei sali del plasma (De Vries e Hamburger). Le osservazioni di Hayem (1) sul coagulo e sul siero del sangue degli emoglobinurici hanno messo in chiaro quanto segue:

Il sangue estratto durante l'accesso di emoglobinuria coagula alquanto più presto dell'ordinario; il siero che si separa apparisce subito colorato; dopo alcune ore il coagulo si ridiscioglie facilmente nel siero. Questo carattere di poca resistenza del coagulo era già stato notato da Salle.

---

(1) « Du sang » (*Soc. méd. des Hôp.*, 1888-89, Paris).

Fuori dell'accesso, il coagulo è normale; il siero che si separa può essere incoloro, ma dopo un certo tempo assume una colorazione rosea che partendo dalla periferia del cruore si diffonde progressivamente nella massa liquida: quando questa ha raggiunto un certo grado di colorito rosso, il fenomeno si arresta e l'intensità della colorazione non aumenta più oltre.

Hayem ne dà la interpretazione seguente: Il plasma come tale, sebbene non alterato, non scioglie i corpuscoli, ma, tosto che il sangue è uscito dai vasi, separa un siero anormale che distrugge un certo numero di eritrociti, dopodichè riacquista il suo normale comportamento, non possiede più potere distruttivo e quindi la distruzione si arresta.

Viola (1), nell'Istituto del prof. Bonome, ha portato una contribuzione notevole tanto alla questione dei globuli come a quella del plasma. Per i globuli, avendo provata la loro resistenza in soluzioni saline di diversa concentrazione, trovò che il loro valore isotonico in queste non è diverso da quello dei globuli rossi perfettamente normali; confermò inoltre il fatto, già stabilito da Ehrlich, che i globuli degli emoglobinurici non sono punto più sensibili al freddo nè all'acido carbonico di quelli dei sani. Adunque, in quanto ai globuli, risultati completamente negativi. Invece, avendo immesso nel siero del sangue del suo emoglobinurico (separato con tutte le cure dal coagulo e che si presentava quasi privo di emoglobina) dei corpuscoli del sangue dello stesso paziente, ed in un secondo campione dello stesso siero dei corpuscoli del sangue di un individuo sano, trovò *che in entrambi i saggi dopo la sedimentazione il siero si mostrava intensamente ed in egual grado tinto di emoglobina.*

A nessuno può sfuggire l'importanza grandissima di questi risultati, i quali, posti accanto a quelli di Hayem, mi sembra dimostrino che il siero del sangue degli emoglobinurici possiede, *quando non sia emoglobinico,* un potere globulicida.

---

(1) *Policlinico*, vol. II-M, fasc. 10, 1895.

Questa peculiare proprietà del siero degli emoglobinurici trovò piena conferma nei risultati di alcune ricerche da me istituite sul sangue del medesimo paziente, che servì di studio al dott. Viola, ricerche che qui brevemente riferisco. Il paziente è certo Mingardo Antonio, di anni 42, facchino, di Padova.

Riassunto anamnestico. — I genitori morirono in età piuttosto avanzata, il padre di polmonite, la madre in seguito ad una emiplegia che l'aveva resa impotente da lungo tempo. Tre fratelli e cinque sorelle sono tuttora viventi e sani. Egli stesso nacque a termine di parto regolare. Cominciò a camminare soltanto a due anni, essendo stato malaticcio fino a questa età. Da allora in poi il suo sviluppo fisico procedette in modo regolare. Lavorò in campagna fino a 16 anni e poi come facchino di drogheria fino ai 28; successivamente fece il bracciante avventizio, lavorando ora molto, ora pochissimo. Conobbe a 14 anni la venere solitaria, alla quale si dedicò sfrenatamente fino ai 22 anni, quando vedendosi ridotto in condizioni fisiche e psichiche deplorevoli, smise il malo vizio e contrasse le prime relazioni con donne, ma non amò mai tanto l'amplesso naturale come il piacere solitario al quale ogni tanto si abbandona tuttora. È celibe; mangiatore e bevitore di resistenza non comune, potendo ingerire enormi quantità di vino, senza, a detta sua, ubbriacarsi. All'età di 7 od 8 anni e fino ai 9 o 10 sofferse di febbri intermittenti, ritenute malariche e curate con chinino; a 13 anni ebbe una grave malattia febbrile la cui natura è rimasta ignota. A 28 anni cominciò a soffrire di ragadi anali con forti perdite di sangue che durarono a lungo e lo ridussero in uno stato di accentuata oligoemia. A 33 anni divenne un giorno intensamente itterico; fu curato all'ospedale e non ne guarì completamente se non dopo cinque mesi. Poco tempo dopo, un mattino di novembre, mentre attendeva al governo di un cavallo è colto improvvisamente da brividi violenti seguiti dopo qualche po' da dolori al tronco e poi da sudori; finalmente dall'emissione di orine rosse del colore del sangue. A questo primo accesso tennero dietro degli altri; negli intervalli si sentiva benissimo. L'infermo racconta che specialmente il freddo umido è favorevole all'accesso, che nei giorni d'inverno se si alza in fretta e si mette a correre nell'attraversare la strada per giungere al vicino caffè, dove prende subito del latte caldo, evita l'accesso; altrimenti non ne è risparmiato. L'accesso si inizia con una viva impressione di freddo, quando più intensa

al petto, quando ai piedi e quando ai lombi; quando il freddo lo prende alle reni di solito l'accesso è più grave. Abitualmente dopo l'accesso gli si gonfiano e fanno dolenti il fegato e la milza. In questi ultimi anni gli accessi si son fatti più rari. Non risulta che il paziente abbia mai presentato sintomi di sifilide congenita od acquisita.

Esame obbiettivo. — Individuo di costituzione robusta, sguardo vivace, intelligente. La cute del capo è avvizzita, di tinta uniformemente giallo-bruno pallida, sul tronco è leggermente gialla, umida, sollevabile in larghe pieghe, elastica. Masse muscolari ben sviluppate. Denti sani, lingua coperta di uno strato sottile pattinoso. Impulso della punta cardiaca nel 4° spazio, discretamente valido e prolungato, B. 9,6, V. S. 9, V. d. 11; toni bene avvertiti su tutti i focolai, il 1° alla punta un po' prolungato, il 2° all'aorta più accentuato di quello polmonare, senza altri speciali caratteri. Le arterie periferiche offrono una resistenza un po' aumentata, sono tuttavia compressibili e non presentano ineguaglianze. Le carotidi sono ampie e un po' dure, le temporali pronunciate e flessuose. Il polso è raro (50 al minuto), ritmico ed uguale. Esplorandolo però in momenti differenti si hanno oscillazioni di frequenza abbastanza notevoli (da 46' a 60'). Il grado di ripienezza del vaso mi sembrò pure molto variabile in diversi momenti anche ripetendo l'esplorazione a brevi intervalli di tempo; queste variazioni si osservano specialmente al mattino quando il malato è digiuno. I riflessi vasali della cute hanno pure alcunchè di capriccioso. Strisciando sulla pelle con una punta aguzza si ottiene talora quasi immediatamente una linea iperemica, talvolta invece una persistente linea ischemica. — Il *fegato* deborda di due dita dall'arco costale fra le linee papillare e parasternale; il suo margine ha una consistenza un po' aumentata senza giungere al grado di durezza. L'area di ottusità epatica misura cm. 11 $^{1}/_{2}$ sulla parasternale, 12 $^{1}/_{2}$ sulla papillare e 13 sulla ascellare anteriore. — La *milza* si avverte pure distintamente alla palpazione; deborda di oltre un centim. dall'arcata costale; il diametro longitudinale è di cm. 20, il trasverso lungo l'ascellare medio cm. 12.

Esame del sistema nervoso. — La sensibilità tattile può dirsi normale; esiste però una leggiera differenza fra i due lati del corpo, essendo più squisita a destra. La sensibilità termica tanto al freddo come al caldo è dovunque squisita; i riflessi cutanei e i profondi vivaci e pronti.

Termometria e Calorimetria. — La temperatura ascellare oscilla fra 36°,6 (mattino) e 37 (sera). La temperatura locale cutanea

sugli arti presentò, in ripetute ricerche, differenze di $^3/_{10}$ fino a $^5/_{10}$ fra i due lati essendo ora più elevata a destra ora a sinistra. — La dispersione del calorico (calorimetro di Winternitz) misurata sugli arti superiori fu di Cgr. 7° a destra e Cgr. 8°3 a sinistra in una ricerca fatta nelle ore antimerid. e Cgr. 14°2 a destra, Cgr. 13°8 a sinistra in altra ricerca fatta nelle ore pomeridiane. Il paziente è sottoposto a dieta costante così composta: latte litri 1 $^1/_2$, brodo 300, pane 300, formaggio 40. carne 50, vino 300. — In queste condizioni egli evacua il corpo ogni 2 giorni. La quantità delle orine oscilla fra 1,500 e 2,300 c. c. nelle ventiquattro ore.

Esame delle orine di una giornata: quantità: c. c. 1800, colore giallo ambra torbide, odore speciale, reaz. acida, sedimento abbondante, bianco roseo, p. sp. 1021. Urea (azoto, Kyeldahl) gr. 16,73. Urati abbondanti; fosfati, solfati, cloruri normali; albume, traccie dubbie; peptone nulla, mucina traccie. Emoglobina, urobilina, pigmenti ed acidi biliari assenti, zucchero id., indaco azzurro traccie. Nel sedimento: urati amorfi, epitelî vescicali, scarsi globuli bianchi, scarsissime emazie, filamenti mucosi (cilindroidi).

Altro esame: quantità 2100, colore giallo ambra chiaro, torbide, odore che ricorda quello di osmazoma, reaz. acida debole, sedimento coi caratteri notati nell'esame precedente. Urea gr. 17,41. Urati abbondanti; cloruri fosfati e solfati normali. Traccie di albume, traccie ben evidenti di mucina; peptone, zucchero, acidi biliari, pigmento ematico e biliare assenti. In alcuni cmc. di questa orina si versa una goccia di sangue di individuo sano e si agita. I globuli rossi si raccolgono sul fondo e dopo 4 ore sono raggrinzati e un po' scolorati; dopo 24 ore non hanno subìto ulteriori alterazioni.

Esame microscopico del sangue. — Il preparato viene fatto sul sangue appena estratto. I contorni del vetrino copri-oggetti sono spalmati di vaselina. Emazie ben conformate e colorate, poco elastiche, hanno tendenza a raccogliersi in ammassi piuttosto che in pile. Negli spazi liberi si notano molte granulazioni protoplasmatiche, la maggior parte incolore come i globuli bianchi, alcune però sono leggermente colorate. I globuli bianchi sono di diverse dimensioni, alcuni molto grandi, mono o polinucleati con protoplasma finamente granuloso con granuli poco o nulla rifrangenti.

Dopo mezz'ora i globuli rossi hanno tendenza ad agglutinarsi formando delle masse in mezzo alle quali si vedono degli acromatociti. Dopo un'ora si vedono molti poichilociti, globuli rossi scolorati e deformati, alcuni rari globuli rossi spezzati con l'apparenza di gusci d'uovo rotto (schistociti), a fianco di questi delle piccole masse sferiche debolmente colorate. Qua e là si vedono delle aree di colore

uniformemente roseo in cui non si scopre traccia di elementi figurati; sopra di queste masse sopranuota qualche emazia ancora ben conservata. I globuli bianchi si distinguono meglio che non al primo esame. Alcuni di essi contengono granulazioni molto rifrangenti.

Esperimento I. — Il giorno 17 marzo si aspirano mediante ago-cannula con siringa di Banti, da una vena della piega del cubito, 2 cc. di sangue; si evita di allacciare il braccio e si comprime semplicemente la vena col dito superiormente al luogo dove si punge. Il sangue è versato immediatamente in una provetta ben pulita e posto subito in ghiaccio evitando ogni scuotimento. La stessa operazione si fa col sangue appena estratto dalla vena di una persona sana. Dopo 24 ore il siero che si è separato è perfettamente limpido giallo chiaro in entrambi i saggi. Nella provetta contenente il sangue del malato il coagulo è fitto e consistente ed è costituito da un blocco di fibrina che separa il siero dalla massa sottostante dei globuli. Questo coagulo è più voluminoso di quello del sangue di confronto ed il siero, che si è separato, è proporzionatamente più scarso.

Esperimento II. — Nella stessa occasione della precedente estrazione di sangue se ne versa $^1/_2$ cc. in una provetta ben asciutta e pulita e si aggiunge 1 cc. di soluzione di solfato di soda al 10 $^0/_0$ per impedire la coagulazione; la stessa operazione si fa con un campione di sangue normale. Si capovolge un paio di volte la provetta, senza scuoterla, e si centrifuga per 10 minuti. I globuli si sono raccolti in fondo alla provetta; il liquido soprastante è limpido ed incolore egualmente nelle due provette. Dopo 24 ore però questo liquido appare leggermente colorato nella provetta contenente il sangue del malato, mentre non ha mutato colore nell'altra provetta.

Esperimento III. — Si estrae sangue dalla vena senza legare il braccio come nelle esperienze precedenti e si raccoglie in tre diversi tubi ben puliti, mescolandolo in ogni tubo con due volumi di soluzione di solfato di soda al 10 $^0/_0$. Il primo tubo non si agita, il secondo si agita leggermente; il terzo fortemente; poi i tre tubi sono posti a raffreddare in ghiaccio. Dopo 24 ore si vede che la massa globulare deposta ha uno spessore massimo nel primo tubo, dove il liquido soprastante appare leggermente colorato; ha uno spessore minore nel secondo dove il liquido ha un colore un po' più carico ed ha uno spessore minimo nel terzo dove il liquido è distintamente emoglobinico. Ripetuta questa esperienza dà lo stesso risultato.

Esperimento IV. — Quattro cc. di sangue appena estratto si distribuiscono in quattro provette (1 cc. per ognuna) due delle quali

sono prima internamente umettate con paraffina liquida. Nelle altre due provette il sangue è mescolato cautamente con quattro volumi di solfato di soda. Una delle provette contenente sangue puro ed una di quelle contenente sangue diluito sono collocate in acqua a 50° per 5 minuti. Le altre due sono lasciate durante questo tempo alla temperatura ambiente; poi le quattro provette sono collocate nella macchina a centrifugazione. Dopo qualche tempo il sangue puro in paraffina si è coagulato bene nella provetta non riscaldata, meno bene in quella riscaldata. In questa si possono osservare tre strati: uno inferiore, bruno compatto; uno medio, rosso-bruno, torbido; uno superiore, rosso-chiaro, limpido. Nella provetta non riscaldata tre strati del pari: uno inferiore rosso-bruno, uno medio, fibrinoso; uno superiore, limpido giallo-limone. Agitando un po' bruscamente questa provetta lo strato medio ed il superiore si colorano, il medio distintamente, il superiore leggermente. Nelle due provette contenenti sangue mescolato a soluzione di solfato di soda, il liquido separato mediante la centrifugazione apparisce giallo aranciato ed assai leggermente torbido nella provetta riscaldata, nell'altra è giallo limone perfettamente limpido. — In una esperienza di confronto con sangue normale il siero separato si presentò egualmente chiaro e limpido in tutte le provette.

Esperimento V. — Si lega il braccio sopra il cubito in modo che le vene si gonfino. Dopo alcuni minuti il braccio è diventato cianotico e freddo; si estrae sangue dalla vena e se ne versa in due provette, una ben asciutta ed una umettata con paraffina liquida. Senza agitarle si pongono in ghiaccio. Il siero che si separa è giallo-rosso. Una goccia di questo sangue osservato al microscopio presenta emazie pallide, poichilociti, nessuna disposizione in pile.

Da queste prime esperienze risulta:

I. Che il sangue estratto dalle vene dell' emoglobinurico coagula normalmente se non è agitato. Però il coagulo è più voluminoso in paragone di quello di un sangue normale. Il siero che si separa è proporzionatamente più scarso ed è incoloro.

II. Se il sangue è sottoposto a scuotimenti, il siero che si separa è colorato.

III. Evitando la coagulazione con aggiunta di solfato di soda e lasciandolo in riposo, il siero dopo qualche tempo si colora, sottraendo emoglobina ai globuli.

IV. Se il sangue è riscaldato per 5 minuti alla tempera-

tura di 50° C, il coagulo non si forma bene e il siero che si separa resta colorato.

V. Se si estrae sangue da una vena dopo aver prodotto in essa una stasi un po' prolungata, il siero, che poi si separa, ha gli stessi caratteri di quello del sangue sottoposto a bruschi maneggi, vale à dire è emoglobinico.

Avendo il paziente acconsentito a sottoporsi ad un raffreddamento per provocare un accesso, venne per gentile concessione del Prof. De Giovanni accolto nella Clinica medica. Qui si ripete prima sommariamente l'esame obbiettivo. I limiti del fegato e della milza sono segnati sulla cute mediante il lapis di nitrato d'argento. — Fegato: parasternale 11; ascellare anter. 13. Milza: 20 × 11.

Alle ore 8 del mattino non avendo preso che un bicchiere di marsala, esce dal letto e fa alcuni giri a piedi nudi sul pavimento di mattonelle, poi immerge le gambe in un bagno d'acqua alla temperatura dell'ambiente che si fa raffreddare gradatamente mediante pezzi di ghiaccio (ore 9); finalmente pone i piedi in un' altra vasca contenente solo ghiaccio col quale il paziente si friziona le gambe e le coscie. A questo punto è costretto ad interrompere e ad andare a letto (ore 10 $^1/_4$); si sente un profondo malessere, brividi e tremori generali lo colgono, accusa intensi dolori alla regione lombare e lungo il dorso, vomita il marsala ingerito. Il colorito del volto è pallido, leggermente cianotico; il paziente si ranicchia sotto le coperte anche col capo e prega di essere lasciato tranquillo.

Ore 11. Temp. ascellare 39°3; polso piccolo, frequenza 88, respiri 24; continuano i brividi e un senso generale di malessere.

Ore 12. Polsi 74. Respiri 24. Cefalea, dolori ai lombi, sensazioni di stanchezza dolorosa agli arti inferiori. — Ad un rapido esame si constata che il fegato e la milza sono alquanto ingrossati avendo già il loro margine inferiore oltrepassati i limiti segnati col nitrato d'argento.

Ore 13. Polso 76. Respiri 25. Temperatura all'ascella 39°. Il paziente emette le prime orine che sono nere (250 cc.); continua la cefalea; il dolore ai lombi è diminuito, al freddo è subentrato il calore; incomincia ad avvertire il ronzio agli orecchi. Si fa una prima estrazione di sangue dalla vena alla piega del cubito.

Ore 14. Sudore.

Ore 15. Senso di benessere, sudore abbondante, emissione di altri 2500 cc. di orina bruno-rossa. Si fa una seconda estrazione di san-

gue dalla vena. Il margine inferiore del fegato è abbassato di oltre due dita trasverse; l'ottusità si estende per 15 cm. sulla parasternale e per 17 cm. sulla mamillare. Anche la milza è notevolmente ingrossata. Diametri 22 × 12. La palpazione riesce al paziente alquanto molesta.

Ore 17. Al senso di benessere è succeduto un senso di prostrazione e di debolezza. Il malato ha preso del cibo. Emette 650 cc. di orina rosso-scura. Temp. all'ascella 37°. Durante la notte emette altri 950 cc. di orina giallo-rossa.

Le orine emesse la prima volta durante l'accesso hanno reazione alcalina, p. sp. 1016; quelle della seconda emissione reazione acida p. sp. 1011; quelle emesse più tardi reazione acida p. sp. 1017. Le prime due sono bruno-nere, torbide, opache; la terza rossobruna, torbida. All'esame spettroscopico ben visibili le due striscie d'assorbimento nel giallo e verde fra le linee D ed E ed una anche più marcata nel giallo a sinistra delle precedenti (metaemoglobina).

Esame chimico: albumina ed emoglobina in copia, peptone abbondante, propeptone assente; fosfati scarsissimi; gli altri sali normali; indaco, urobilina, pigmenti ed acidi biliari e pigmenti gialli assenti. — Nel sedimento: granulazioni bruno-rosse amorfe, cilindri jalini, nessun globulo del sangue. Le orine della notte non contengono che traccie di emoglobina; pigmenti gialli abbondanti. Le orine emesse al mattino seguente all'accesso non contengono più albumina nè emoglobina; contengono pigmenti gialli in discreta copia.

Esame del sangue. — Alle ore 15, appena incominciato il periodo di defervescenza dell'accesso, si punse un dito per la prova della emoglobina e per l'esame microscopico.

Emoglobina all'emometro di Fleisch 75 °/₀.

Globulimetro di Hayem. Emazie 4.092.000.

Globuli bianchi 6.300.

Al microscopio: poichilocitosi, molti globuli hanno l'aspetto di borse o di vescicole di guttaperca sfiatate e sono evidentemente pallidi. Si osservano inoltre microciti ad una precoce trasformazione spinosa dei globuli. I globuli bianchi sembrano aumentati di numero; ve ne ha di piccoli (linfociti) e di molto grandi polinucleati con protoplasma quasi diafano, senza granuli. Il preparato è chiuso con paraffina. Dopo alcune ore i globuli sono ammassati ed in gran parte fusi in aree rosse-gialle in mezzo alle quali spiccano alcune ombre. Negli interstizi vi vedono distintamente globuli bianchi rigonfi contenenti nel loro seno emazie debolmente colorate ed in via di distruzione. Alcalimetria: equivale a 31 cgr. di soda per 100 cc. di sangue.

Esame del coagulo e del siero. — Il sangue estratto dalla vena alle ore 13 (circa 1 cc.) è lasciato nella stessa siringa che ha servito per l'aspirazione. Levato l'ago-cannula, si chiude l'orifizio della siringa infiggendola in un tappo di sughero e la si pone in direzione verticale entro un tubo d'assaggio e questo in ghiaccio. Il coagulo si forma rapidamente ed il siero che si separa è giallo-rosso.

Il sangue estratto alle ore 15 è versato in tre provette, delle quali l'una spalmata internamente con paraffina. Due di questi saggi sono posti immediatamente a raffreddare in ghiaccio evitando ogni scuotimento, il terzo si centrifuga. In questo il siero che si separa è pochissimo colorato. Nelle altre due provette il coagulo si forma in pochi minuti, ma è poco consistente. Dopo 24 ore nessuna separazione di fibrina. Il siero che si è separato è emoglobinico distintamente negli strati inferiori che sono in contatto col coagulo; la colorazione è meno intensa negli strati superficiali. Agitando leggermente le provette i coaguli si ridisciolgono, non però completamente, il siero si tinge intensamente.

Alcuni giorni dopo l'accesso provocato, il paziente stando benissimo, ho ripetuto l'esame del coagulo e del siero:

1° aprile. Il paziente sta bene. Nelle ore pomeridiane estraggo un campione di sangue da una vena della piega del cubito previa applicazione di un laccio superiormente, che viene tolto non appena l'ago-cannula è penetrato nella vena. Il sangue è subito versato in una provetta umettata con paraffina liquida.

Esame del sangue dopo 18 ore. — Dalla sottostante massa dei globuli emerge un cono fibrinoso bianco. All'intorno di questo uno strato di siero giallo-chiaro limpido, però in vicinanza della base del cono di fibrina, dove il siero è in contatto coi globuli, presenta una leggiera tinta rosso-ciliegia. Dopo 24 ore la tinta rossa del siero è più diffusa; agitando si colora più intensamente. — Lo stesso risultato si ottiene se il sangue è raccolto in una provetta asciutta (senza paraffina) e dopo $^1/_2$ ora si fa scorrere delicatamente un filo di platino fra l'incipiente coagulo e le pareti della provetta. Evitando questa pratica, il coagulo fibrinoso che si forma in una provetta asciutta aderisce alle pareti del vetro e divide completamente il siero dalla massa dei globuli; il siero è allora in quantità più scarsa, ma è completamente incoloro.

Posso dunque concludere, che quando il malato sta bene, il siero che si separa dal sangue per effetto della coagulazione è incolore, ma venendo esso a contatto coi globuli ne scioglie

una parte e diventa colorato. Se si favorisce questo contatto agitando la provetta, la colorazione del siero si fa più manifesta. Sorge qui spontanea la domanda, se tale fenomeno della diffusione dell'emoglobina nel siero è la conseguenza di una proprietà dissolvente di questo sui globuli rossi, o l'effetto di una diminuita capacità dei globuli a trattenere la loro sostanza colorante. — Se la ragione del fenomeno fosse quest'ultima (come crede Schwostek) dovrebbero i globuli dell'emoglobinurico sciogliersi facilmente anche in contatto con siero di sangue normale. Viceversa, se la ragione del fenomeno sta in una alterazione del siero, deve questo dimostrarsi emolitico anche in contatto con globuli di sangue normale. Ho quindi istituito in unione al dott. Taidelli, assistente della Clinica Medica, le seguenti ricerche:

I. — Contegno dei globuli di un sangue normale nel siero del sangue dell'emoglobinurico.

Due mm.³ del mio proprio sangue sono mescolati con 500 mm.³ di siero del sangue del malato ottenuto con tutte le cautele sopra ricordate (siero incoloro). La mescolanza si fa nelle stesse proporzioni e cogli stessi metodi come si usa per la numerazione dei globuli (Hayem).

Altri due mm.³ del mio stesso sangue sono sciolti come termine di confronto in 500 cc. di liquido di Hayem. I preparati sono chiusi in una camera umida.

Numerazione dei globuli.

	Nel siero dell'emoglobinurico.	Nel liquido di Hayem.
appena fatta la mescolanza:	3.230.000	3.750.000
dopo 4 ore	2.500.000	»
dopo 12 ore	1.950.000	»
dopo 20 ore	1.800.000	»

Già dopo le prime 4 ore molti corpuscoli hanno presentato la trasformazione spinosa oppure sono impiccoliti, altri, sebbene abbiano conservata la loro forma primitiva, sono evidentemente scolorati. — La mescolanza dei globuli nel siero di sangue, come pure quella dei globuli nel siero artificiale di Hayem, furono conservate fino a completa deposizione dei globuli. Si osservò poi che il siero artificiale era incoloro, mentre quello appartenente al sangue del malato presentava una tinta rosso-chiara (ossia era emoglobinico).

II. — Globuli di sangue dell'infermiera Giovanna T.; nel siero di sangue dell'emoglobinurico:

	nel siero.	nel liquido di Hayem.
	5.800.000	5.850.000
dopo 5 ore	4.250.000	»
dopo 14 ore	3.379.000	»

Nell'ampollina il siero è emoglobinico.

III. — Globuli del sangue del dott. Taidelli nel medesimo siero. La mescolanza si fa alle ore 19.

ore 19,30	6.542.000	Notevoli e progressive alterazioni di forma e disfacimento dei globuli.
dopo 4 ore $^1/_2$	3.820.000	
dopo 12 ore	3.010.000	
dopo 20 ore	2.900.000	

Nell'ampollina che contiene la mescolanza i globuli sono deposti, il siero è colorato.

IV. — Globuli del sangue della stessa infermiera Giovanna T., nel siero del suo proprio sangue. Dopo 24 ore non si osserva nessuna apprezzabile diminuzione di numero, nè alterazione di forma.

V. — Si ripete l'esperienza col mio sangue mescolato a siero dell'emoglobinurico.

Al 1° esame	3.500.000
dopo ore 3 $^1/_2$	2.300.000
dopo 13 ore	1.500.000
dopo 24 ore	800.000

VI. — Globuli del sangue di una cloro-anemica nel siero di sangue dell'emoglobinurico.

Subito dopo la mescolanza	4.400.000
dopo 4 ore	3.200.000
dopo 14 ore	2.800.000
dopo 27 ore	1.400.000

VII. — Globuli del mio sangue nel siero di sangue di Chinello Vittore di anni 22 (affetto di endocardite cronica). Siero citrino-limpido.

Prima numerazione	4.600.000 (ben conservati)
dopo 6 ore	4.555.000
dopo 15 ore	4.250.000
dopo 25 ore	4.000.000 (i globuli hanno subita la trasformazione spinosa).

VIII. — Globuli del sangue del dott. Taidelli nel siero di sangue di Miazzo Antonietta di anni 18 (affetta da nevrosi di crescenza).

1ª numerazione	5.000.000
dopo 4 ore	5.200.000 (?)
dopo 14 ore	5.270.000 (globuli alquanto impiccoliti)
dopo 22 ore	5.180.000

IX. — Globuli del sangue di Giovan Giuseppina (infermiera) nel siero del sangue di Rizzo Ignazio di anni 41 (emorragia cerebrale).

1ª numerazione	4.300.000
dopo 23 ore	4.270.000
dopo 36 ore	4.500.000 (?)

Dalla miscela il siero si è nuovamente separato di color citrino senza traccia di emoglobina.

X. — Globuli di sangue (estratto dal dito) dell'emoglobinurico in siero di sangue dell'infermiera Giovanna T. Il siero è giallo chiaro. La mescolanza è fatta in queste proporzioni: $^1/_2$ mm.^{3} di sangue in 500 di siero.

5 aprile, ore 13: prima numerazione.

Globuli rossi	2.967.000
dopo 9 ore 2ª numerazione	3.007.000
dopo 19 ore 3ª »	2.729.000
dopo 29 ore 4ª »	2.728.000

Alla seconda numerazione i globuli presentavano in parte la trasformazione spinosa. Ai successivi esami non avevano più la forma spinosa, ma di piccole sfere, conservanti bene il colore. Nella mescolanza, dopo 24 ore, i globuli sono deposti; il siero è giallo chiaro limpido.

14 aprile. In questo e nei giorni precedenti si ebbe una forte depressione atmosferica con abbassamento della temperatura e forte aumento di umidità relativa nell'aria. Non pertanto il nostro paziente venne in Clinica e si lasciò estrarre 10 cc. di sangue da una vena, ciò che si fece colle solite precauzioni, evitando una forte compressione ed omettendo il laccio. Il sangue nell'atto che esce dalla vena è molto oscuro. Se ne raccoglie una parte in una provetta che si mette a riposare in ghiaccio e parte in altra che si lascia alla temperatura dell'ambiente. Dopo mezz'ora il coagulo è già formato nelle due provette; si fa scorrere un ago di platino sterilizzato fra il coagulo e le pareti della provetta per permettere una più facile separazione del siero.

15 aprile. Il siero è seperato dal coagulo mediante aspirazione

e decantazione. Il siero separato dalla provetta che era stata tenuta in ghiaccio è giallo-roseo, limpido; quello lasciato alla temperatura dell'ambiente è torbido e più intensamente colorato del primo. Nella prima provetta il coagulo è abbastanza compatto; nella seconda invece è assai molle e friabile, tanto che una parte dei globuli defluisce dalla provetta insieme col siero che si decanta. Questo siero viene centrifugato; i globuli si decompongono ed esso rimane tinto del colore di ciliegia. Il siero così ottenuto è sottoposto alle esperienze per conoscere la sua capacità di conservazione dei globuli. L'esperienza si fa coi globuli del mio sangue e con quelli di un malato di sciatica. Il risultato questa volta fu la conservazione quasi perfetta dei globuli come avviene col siero di sangue sano.

Quando adunque il siero, appena separato dal coagulo, si presenta colorato, cioè contiene una certa proporzione di emoglobina, sia che questa preesistesse nel plasma, sia che il siero l'abbia sottratta ai globuli nell'atto stesso in cui avvenne la sua separazione dal coagulo, esso non ha più potere globulicida, esso cioè riacquista, come dice Hayem, rispetto ai globuli, il suo normale comportamento. Non è dunque meraviglia se Lion (*Soc. de Biologie*, 20 dic. 1894), avendo fatta la ricerca del potere globulicida col siero di sangue estratto durante un accesso (siero emoglobinico) ebbe risultati negativi.

Il modo con cui si estrae il sangue che deve servire per queste ricerche è molto importante. Si hanno risultati completamente differenti a seconda che si lega il braccio al disopra del punto dove si punge, oppure non lo si lega. In questi malati la stasi venosa è, senzo alcun dubbio, causa di alterazioni intravascolari del plasma. Il sangue che si estrae da una vena resa turgida per stasi, è di colore molto più scuro, alquanto più viscido e coagula in modo diverso da quello che si ottiene se si evita la stasi. Il coagulo è disgregato, in frammenti, il siero che si separa è sempre emoglobinico. Lo stesso effetto si ha agitando e scuotendo un po' bruscamente la provetta, nella quale il sangue è raccolto (Esperienza di Schwostek). La spiegazione deve cercarsi nel fatto che i bruschi maneggi ostacolano la formazione del coa-

gulo, il quale, anzichè formarsi in modo rapido ed in blocco, si effettua in una maniera parziale e successiva; il siero che si separa viene così a contatto coi globuli rossi e li scioglie. Credo per fermo che la mancanza di sufficienti cautele nella raccolta o nella preparazione del saggio di sangue sia stata la causa di molti reperti fallaci, in base ai quali alcuni autori hanno affermato, secondo me a torto, che la emoglobinemia è una condizione permanente negli emoglobinurici. Hayem pone il sangue a coagulare in una stufa a 25°-35°. Ho potuto accertarmi che il coagulo si forma meglio ad una temperatura bassa, ed in tal modo è anche più facile di ottenere un siero scevro di emoglobina, come si richiede per le esperienze sul potere globulicida.

I risultati di queste mie ricerche possono essere riassunti nelle seguenti

CONCLUSIONI.

Il siero del sangue di un individuo affetto da emoglobinuria parossistica, ha, quando non sia già emoglobinico, un potere globulicida; venendo cioè a contatto coi globuli rossi dello stesso o di altri individui (sani o malati) ne distrugge una parte e si colora. Tale comportamento del siero è senza dubbio legato ad una anormalità del plasma.

Viceversa, i globuli rossi dell'emoglobinurico non si comportano in modo essenzialmente diverso da quelli di un sangue normale quando siano mescolati con siero di sangue di altra provenienza (cioè di individui sani o malati non emoglobinurici).

Mi sia ora permesso, sulla base dei risultati qui esposti, tentare una soluzione dei problemi che dominano oggi la patogenesi della emoglobinuria essenziale parossistica.

Da che cosa è prodotta la alterazione del plasma sanguigno degli emoglobinurici?

Non si può certo ammettere che la causa determinante dell'emoglobinuria (nel mio caso il freddo) sia la causa della alterazione del plasma, perchè questa alterazione preesiste all'accesso. Conviene dunque risalire a qualche causa remota. Ora, in nessuna malattia forse l'anamnesi patologica è stata più diligentemente investigata di quello che si è fatto per i casi di emoglobinuria. Ebbene, le cause capaci di portare una più o meno profonda alterazione della crasi sanguigna non sono, si può dire, mai mancate; in prima linea l'impaludismo, poi la sifilide, acquisita o congenita, il reumatismo, la gotta, l'arteriosclerosi, altri stati discrasici associantisi a manifestazioni neuropatiche (artritismo, erpetismo), in casi più rari la tubercolosi (casi di Guyon, di Brandt, di Brunelle) (1), il cancro (caso di Marmasse) (2), la scarlattina, la febbre tifoide, ecc. A fianco a queste sono ben di rado mancate altre cause capaci di influire sull'ematosi in modo diretto o indiretto, come l'alcoolismo, gli abusi sessuali, i patemi, i traumi. Il nesso causale tra questi precedenti e la emoglobinuria si è qualche volta potuto dimostrare. Infatti si conoscono casi guariti col chinino, altri che migliorarono od anche guarirono col mercurio; in singoli casi, in cui la causa si ritenne fosse la uricemia o l'artritismo, si ottennero buoni risultati da cure dirette contro queste diatesi. Un altro argomento in favore dell'esistenza di un nesso etiogenico fra questi diversi stati morbosi e la emoglobinuria lo abbiamo in questo, che quelle infezioni (come la scarlatina e la febbre tifoide), la cui influenza modificatrice sulla crasi sanguigna non ha lunga durata, si associano all'emoglobinuria (benchè molto di rado) solo durante il periodo acuto della infezione, o tutt'al più du-

(1) Brandt, Th. Paris, 1895. — Brunelle, *Bull. méd. du Nord*, 1891-1893.

(2) Citato da Delabrosse. Th. Paris, 1889.

rante la convalescenza; per contrario quelle infezioni che sono capaci di alterare in una maniera indelebile la crasi sanguigna possono essere seguìte dall'emoglobinuria anche alla distanza di molti anni. In qual modo le malattie ora dette diano luogo a quella speciale alterazione del sangue che predispone alla emoglobinuria, e se questa alterazione sia sempre nel plasma o altre volte piuttosto nei globuli, le conoscenze che attualmente possediamo non ci permettono di dire.

La separazione della emoglobina dai globuli avviene al momomento dell'accesso, oppure permane anche fra gli accessi di emoglobinuria?

Per il caso che ho studiato posso affermare che il passaggio della emoglobina nel plasma si verifica d'ordinario soltanto durante l'accesso. Avendo però esaminato il sangue del mio paziente in un giorno umido e freddo, trovai il plasma leggermente colorato, senza che le orine mostrassero di contenere emoglobina. Sebbene dunque la emoglobinemia non sia un fatto permanente nell'emoglobinuria parossistica, pure essa può aversi anche fuori degli accessi di emoglobinuria. Hayem ha osservato la stessa cosa. Egli poi crede che la dissoluzione dell'emoglobina avvenga soltanto in vitro, perchè in tutte le prove il siero, *dopo un certo tempo*, apparisce più o meno colorato. Io non posso oppormi in modo assoluto alla affermazione di Hayem, ma parmi che quando il sangue centrifugato immediatamente dopo la sua estrazione lascia vedere subito il plasma colorato, questo fatto deve preesistere alla estrazione se non allo stesso grado che *in vitro*, almeno in un grado più leggero. Per lo meno bisogna convenire, che se se nel sangue che si estrae durante un accesso la emoglobina non è ancora disciolta nel plasma, è molto prossima ad esserlo. Siccome poi l'alterazione del plasma per la quale il siero, separandosi dalla fibrina e venendo a contatto dei globuli li scioglie, è in questi pazienti costante, così dobbiamo

ritenere che se in essi la emoglobinemia non è permanente *in fatto*, lo è *in potenza.*

Che la separazione della emoglobina dai globuli avvenga in qualche parte del circolo non vi può essere dubbio, per una parte almeno dei casi, in quanto che si conoscono reperti necroscopici di individui morti in pieno accesso emoglobinurico (ad es., quello di Dieulafoy (1)), nei quali l'esame microscopico permise di escludere la presenza di globuli rossi nell'interno dei tubuli renali; d'altro canto, avendo altri reperti (quelli di Sivestrini (2) e di Demme (3)) accertata la presenza di stromi globulari spezzati od in via di distruggersi, accanto a masse granulari di emoglobina nell'intorno dei canalicoli e delle capsule di Bowmann, non si può porre in dubbio nemmeno che i globuli possano sciogliersi e dare l'emoglobinuria anche dope essere fuorusciti da capillari del glomerulo. La ragione però di questo rapido sfasciarsi dei globuli appena fuor usciti dai capillari del glomerulo, in modo che quando l'orina viene espulsa non esiste di essi più traccia, non può trovarsi in un'azione dissolvente che l'orina già formata eserciterebbe sui globuli nell'interno del rene, perchè ricerche molte volte ripetute dimostrarono che l'orina emessa durante l'accesso non ha questo potere nemmeno sui globuli estratti dallo stesso paziente in pieno accesso. L'ipotesi poi di Lèpine (4), il quale ammette che, specialmente nei casi in cui si associa una lesione di nefrite cronica, l'orina estremamente acquosa e povera di sali che si separa al principio delle vie orinarie (cioè dal glomerulo), lavando i globuli fuorusciti li disciolga, oltrechè non troverebbe applicazione che in un piccolo numero di casi, inquantochè è raro che l'emoglobinuria si associ ad una vera nefrite, male si conciglia col fatto che la secrezione dell'acqua è scarsa durante gli accessi.

È dunque giocoforza riconoscere che anche quando si ha

(1) Dieulafoy, *Soc. méd. des Hôp.*, 1887.
(2) *Letture sulla Medicina*, vol. II, n. 6.
(3) *Virchow Hirsch Jahresb.*, 1886, II.
(4) Lépine, *Rev. de méd. et de chir.*, 1880-81. — *Lyon méd.*, 1881.

fuoruscita di globuli rossi dal glomerulo, questi nel momento in cui fuoriescono, devono già trovarsi in via di avanzata disgregazione, e pertanto questa deve avvenire nel circolo.

In qual parte del circolo? Ricordo qui l'esperienza di Schwostek, che consiste nel legare fortemente il braccio al disopra dell'articolazione del cubito in modo da produrre un alto grado di stasi nelle vene dell'avambraccio. Se dopo trascorso qualche minuto, quando il paziente accusa dolore e l'arto è diventato freddo e cianotico, si estrae del sangue da una delle vene così rese turgide e subito si centrifuga, il plasma apparisce colorato (cfr. mia Esp. V), inoltre i globuli si presentano in preda a lesioni necrobiotiche identiche a quelle descritte da Murri nell'accesso emoglobinurico, e da Maragliano e Castellino in altri processi. Le stesse alterazioni devono avvenire in qualunque altro punto dove si produca una condizione di stasi.

Se osserviamo uno di questi malati durante l'accesso, noi constatiamo alle volte una ben marcata cianosi periferica; altre volte la cute è piuttosto pallida e all'esame si rileva un forte ingrossamento del fegato e della milza; ciò che non manca mai sono i dolori intensi alle regioni lombari, od almeno è un senso molesto di gonfiamento che il malato riferisce a quella regione. Qualche paziente accusò perfino una sensazione di sbattimento pulsante, come si ha in vicinanza dei focolai infiammatori. Tutto ciò dimostra che durante l'accesso di emoglobinuria avvengono delle stasi di alto grado, ora periferiche, ora prevalentemente viscerali e sopratutto renali. Il rene è l'organo meno accessibile all'esplorazione diretta, perciò, in assenza di sensazioni subbiettive, non si può giudicare delle sue modificazioni di volume.

Abbiamo però altri indizi sicuri di un forte imbarazzo circolatorio del rene, nel ritardo della secrezione orinaria e nei caratteri stessi dell'orina, che di solito nelle prime minzioni è povera di acqua e ricca di urati, ed oltre all'emoglobina contiene albumina e cilindri. Possiamo dunque affermare che fatti abbastanza rilevanti di stasi si hanno sopratutto sempre

nei vasi renali e che per conseguenza è qui uno dei punti ove avviene la dissoluzione dell'emoglobina nel plasma. Esistono anzi molte osservazioni, le quali ci fanno ritenere che il fatto avvenga talvolta soltanto nei reni e perfino in un solo rene.

Qual'è il processo per cui rallentandosi la circolazione può avvenire entro i vasi la scissione dell'emoglobina dal globulo e il suo passaggio nel plasma?

I risultati delle mie ricerche nell'unico caso di emoglobinuria parossistica che ho potuto studiare, mi indurrebbero a concepire il processo nel seguente modo: Il sangue entra in uno stato molto vicino alla coagulazione, senza che tuttavia si giunga alla formazione della fibrina, bastando (come le esperienze dimostrano) che i fibrinogeni si modifichino anche leggermente, perchè il siero eserciti la sua azione sui globuli rossi, distruggendone una parte ed incorporandosi la sostanza colorante.

Il concetto di un processo intravascolare analogo ai fenomeni della coagulazione come causa della emoglobinemia, potrebbe parere strano o per lo meno ardito se esso prendesse le mosse soltanto dalle esperienze sul sangue in vitro, ma dal momento che è stato dimostrato che quelli stessi mezzi (p. es. il freddo), che sono capaci di produrre negli animali una dissoluzione della emoglobina nel plasma, possono anche, quando la loro azione si prolunghi, dar luogo a trombosi intravenose (Reineboth), l'idea che ho esposta non deve più apparire semplicemente fantastica. Sappiamo che nel sangue circolante fermenti ce n'è sempre, e se la coagulazione non avviene entro i vasi, è perchè il plasma normale vivente resiste all'azione di questi fermenti, o perchè l'endotelio vasale li distrugge o neutralizza in gran parte. Ma se per qualche causa diretta o indiretta (freddo, digiuni, ecc.) venga a diminuirsi la resistenza del plasma, o se per l'effetto della stasi subitamente insorgente si modifica l'attività vitale degli endotelî,

può il plasma perdere le qualità che lo rendono insensibile all'azione dei fermenti e quindi disporsi come per la coagulazione. Le surricordate esperienze lo dimostrano. Per accogliere dunque il concetto che il sangue circolante possa entrare in uno stato analogo a quello della coagulazione per cause che d'ordinario non bastano a produrla, si richiede una primitiva alterazione della costituzione del plasma e forse anche una modificazione nell'attività vitale degli endotelî di certi distretti vascolari. Questa alterazione del plasma esiste negli emoglobinurici (precocità del coagulo e successiva ridissoluzione di esso se la coagulazione è avvenuta in modo frammentario — per scuotimenti); per conseguenza deve ammettersi la possibilità del fenomeno. Il fatto, da me trovato, di una diminuzione della alcalinità del sangue dopo l'accesso di emoglobinuria convalida la mia presunzione.

Per tutti coloro che accolgono il concetto di una anormale vulnerabilità dei globuli rossi non pare necessario di pensare ad una alterazione del plasma. Ma dappoichè questa esiste, non è forse nostro dovere di metterla in conto? Tanto più dopo che fallirono tutti gli esperimenti coi quali si presumeva di poter con i soli agenti fisici produrre l'emoglobinuria.

Ricordo qui le esperienze di Murri nelle clorotiche e le esperienze di Reineboth sugli animali (1). La quantità dell'emoglobina col bagno freddo diminuisce, una parte dei globuli scompare, e negli animali si ha anche una evidente emoglobinemia; con tutto ciò in queste esperienze non si ottenne mai l'emoglobinuria. Per produrre questa in via sperimentale

---

(1) Murri nelle sue clorotiche tenute in via sperimentale nel bagno freddo vide scomparire una notevole quantità di eritrociti dal sangue e la perdita della emoglobina *non essere inferiore a quella che si osserva nel sangue dopo un accesso di emoglobinuria* (*Policlinico*, 1895).

Reineboth constatò negli animali, dopo raffreddamenti prolungati, riduzioni fortissime del tasso della emoglobina, fino al 38 %; mai emoglobinuria (una volta invece glicosuria) (Experimentelle Untersuchungen ueber den Entstehungsmodus der Sugillationen der Plevre in Folge von Abkühlungen. Zugleich ein Beitrag zu der Path. anat. Veränderungen nach stärkerer Temperaturniedrigung) (*Deut. Arch. f. klin. Medic.*, 1898).

bisogna che l'agente fisico o chimico venga portato nel circolo. Non è questa una ragione di più per pensare che una alterazione del plasma è *conditio sine qua non* perchè si produca l'emoglobinuria?

Se ricerchiamo qual'è, in via puramente fisiologica, il destino della emoglobina resa libera e circolante nel plasma, veniamo a sapere, per le ricerche di Stadelmann, che una parte di essa viene trasformata dal fegato direttamente in bilirubina; un'altra parte viene elaborata dalla milza, dal midollo osseo e, secondo recenti ricerche di Schurig (1), perfino dal rene, con separazione del ferro, che le reazioni microchimiche dimostrano poi deposto in seno a questi organi. Solo se le quantità di emoglobina iniettata superavano di gran lunga ogni limite fisiologico, si aveva emoglobinocolia ed emoglobinuria. In tal modo e con tanta cura l'organismo nello stato fisiologico provvede ad utilizzare l'emoglobina! Perchè non fa così anche l'emoglobinurico? Perchè il suo fegato, la milza ed il midollo osseo non fanno la parte che loro spetta o non la fanno appieno?

Secondo alcuni la spiegazione sarebbe questa: durante l'accesso la distruzione globulare è molto abbondante e sopratutto molto rapida (Brault). Non è vero anzitutto che sia in ogni caso abbondante, ma poniamo pure che lo fosse, i meccanismi fisiologici ora ricordati dovrebbero bastare ugualmente ad evitarne la perdita. Nemmeno la rapidità della distruzione globulare è una ragione sufficiente perchè debba seguirne l'emoglobinuria.

Io ho prodotto, in meno di 15 m., gradi spiccatissimi di emoglobinemia nei conigli, tenendoli in bagno freddo, senza che mai nell'orina passasse emoglobina. La ragione dunque del fatto per cui gli emoglobinurici, a differenza degli altri organismi, sono incapaci di trattenere e di utilizzare la sostanza colorante del sangue quando è disciolta nel plasma, deve essere diversa. Consisterebbe forse in un'azione paraliz-

(1) « Ueber die Schicksale des Hämoglobins im Organismus » (*Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 41 Bd., 1898).

zante esercitata dal sistema nervoso sulla attività di quegli organi che in via normale elaborano e trasformano l'emoglobina? O piuttosto in qualche legame più intimo del solito che in questi individui l'emoglobina libera contrae col plasma e che la rendono più difficilmente attaccabile dai tessuti cui spetterebbe di decomporla?

Io sono ben lungi dal voler dare a queste ipotesi il valore di verità dimostrate.

Per qual meccanismo le cause che chiamiamo determinanti provocano l'accesso?

Qui le esperienze sugli animali e le ricerche di laboratorio ci illuminano ben poco. Dobbiamo dunque affidarci quasi interamente alla osservazione clinica. Ora, un esame attento dei sintomi che si svolgono durante l'accesso, specialmente durante un accesso provocato, ci rende sicuri, almeno la maggior parte delle volte, che le cause occasionali agiscono provocando per via riflessa un disordine idraulico.

Secondo Murri, in questi individui i centri dei riflessi sono facilmente esauribili; pertanto, lo stimolo, che in condizioni normali porterebbe una contrazione dei vasi ed un acceleramento del corso del sangue, si trasforma in una azione sovraeccitante e quindi ipostenizzante. Il calibro dei vasi aumenta invece di restringersi; il sangue rallenta il suo corso e si ha la stasi. Abbiamo veduto che questa è una ragione sufficiente perchè il sangue si alteri. Il disordine idraulico si fa sentire specialmente nella sfera del grande simpatico, perchè, come ha dimostrato Litten, le pareti delle vene del ventre vanno più facilmente delle altre soggette a sfiancarsi, così che una volta dilatate, più difficilmente riprendono il loro calibro primitivo. Le osservazioni fatte durante gli accessi provocati giustificano questo modo d'interpretazione. Nel caso di Schwosteck, il quale fece per sei volte l'esame del sangue in momenti diversi durante un accesso provocato,

la presenza di emoglobina nel plasma ha potuto essere constatata appena un'ora dopo che si erano iniziati i fenomeni generali nervosi.

Lo stimolo che produce per via riflessa il disordine idraulico può essere centrale e periferico. È così che si spiega il modo d'azione delle più differenti cause; freddo, punte di fuoco sulla colonna vertebrale, patemi d'animo, cammino (Hayem). La maggior parte dei sintomi che accompagnano l'accesso, se non tutti, possono considerarsi di natura neuropatica. In alcuni di questi si volle vedere l'espressione di un'azione tossica dell'emoglobina circolante o dei materiali di escrezione trattenuti nel sangue in conseguenza dell'ingombro renale. Una spiegazione molto più semplice e quindi più accettabile la si ha, specialmente pei disturbi cerebrali (cefalea, ronzii, deliqui, vomito), nella insufficiente irrigazione sanguigna dovuta allo stato di semivuotezza delle arterie. La febbre è anch'essa sopratutto un'espressione della nevrosi vasomotoria e può mancare quando le cause occasionali dell'accesso sono di natura debilitante (patemi, eccessi sessuali).

In qual modo il rene prende parte alla produzione della emoglobinuria?

La partecipazione del rene al processo che ha per atto finale l'eliminazione dell'emoglobina con l'orina, è, com'è ben naturale, ammessa da tutti. Alcuni però credono, che ciò che avviene nel rene sia semplicemente un disordine circolatorio, una iperemia vaso-paralitica e non congestiva nè infiammatoria. Altri credono che l'iperemia sia di natura infiammatoria (una specie di edema acuto); alcuni finalmente ammettono come necessaria una partecipazione attiva dell'epitelio renale, al quale spetterebbe di separare l'emoglobina con un vero atto secretorio, come avviene per gli altri principî solidi dell'orina. Questo punto è molto oscuro. Si dice che la secrezione dell'emoglobina non è nel campo delle funzioni normali del-

l'epitelio renale; che questo deve dunque modificare le proprie attitudini per riescire a tale scopo, ma non vi riesce se non alterandosi. Questa alterazione dev'essere leggera, perchè se noi provochiamo una lesione grave dell'epitelio renale, l'emoglobina introdotta non è più eliminata.

Analizziamo queste diverse ipotesi.

Anzitutto noi possiamo istituire un confronto fra la emoglobinuria come fenomeno intermittente e le albuminurie così dette funzionali. Queste sono caratterizzate da una albuminuria che si presenta in soggetti apparentemente sani, in un modo accessuale e sotto l' influenza di cause occasionali, come il freddo, specialmente i bagni freddi, i cangiamenti di posizione del corpo, le emozioni penose, ecc.; finalmente, all'infuori di queste cause, in modo perfettamente ciclico. L' analogia di queste forme colla emoglobinuria parossistica è troppo evidente per esigere una dimostrazione. Possiamo dunque dire di questa come si dice di quelle, cioè che se la natura essenzialmente nervosa e simpatica del fatto renale che le accompagna non è dimostrata in maniera apodittica, vi sono per lo meno molte probabilità in favore di essa.

Molto poche sono invece le ragioni per ammettere un'indole infiammatoria dell'iperemia renale in questi casi. È noto che si dànno perfino delle vere ematurie, che pure si presentano in modo accessuale e per le quali il De Giovanni ha dimostrato non potersi accettare altro concetto patogenico che quello di un puro e semplice fatto vaso-motorio. Ora, io credo che per gli stessi motivi, cioè per l'accessualità e la breve durata del fenomeno, la sua poca influenza sulla secrezione dei componenti normali dell'orina e sulla secrezione dell'acqua, siamo autorizzati ad escludere anche nel caso dell'emoglobinuria parossistica che un qualsiasi processo infiammatorio renale sia necessario a produrla.

Vengo ora alla questione, che è di gran lunga la più importante, per quel che riguarda il passaggio della emoglobina attraverso il rene, cioè quella di sapere dove precisamente avvenga questo passaggio e se l'epitelio renale partecipi in un modo attivo o in un modo passivo alla sua separazione.

Il fatto di trovare il pigmento sanguigno accumulato negli epiteti dei tubuli contorti e nelle branche ascendenti di Henle, mentre manca in ogni parte, ha fatto pensare che là soltanto avvenga la separazione dell'emoglobina, ed ancora che essa si effettui per una attività secretoria dell'epitelio non altrimenti di quello che avviene per le sostanze coloranti (indigosolfato di soda) nelle esperienze di Heidenhain. Non bisogna intanto dimenticare che Adami, dopo di aver sezionato il midollo cervicale e sospesa così la secrezione dell'acqua, osservò che la iniezione di sangue disciolto portava la comparsa di emoglobina nell'epitelio dei glomeruli di Malpighi. Con questo esperimento egli ha provato: 1° che l'epitelio del glomerulo ha la proprietà di attirare l'emoglobina per una specie di elezione; 2° che se nel caso più comune non si trova in esso l'emoglobina, è probabilmente perchè l'acqua che filtra attraverso il glomerulo lava nello stesso tempo il suo epitelio e trascina l'emoglobina.

Come si spiega questa proprietà degli epiteti renali di attirare e di fissare l'emoglobina, salvo poi a liberarsene od a rimanerne lesi? A me pare che molta luce possa venire su questa questione degli studi recentemente iniziati da Schurig (1). Egli avrebbe trovato che l'epitelio renale, e precisamente l'epitelio dei tuboli contorti, ha in parte la proprietà di decomporre l'emoglobina separandola dal ferro. Per iniezioni moderate di emoglobina (fino a $^1/_2$ gr. al giorno di emoglobina cristallizzata per via sottocutanea) il rene compie questa funzione non altrimenti che la milza ed il midollo osseo senza alterarsi nella sua integrità e senza lasciar uscire emoglobina con l'orina. Aumentando del doppio o più la quantità dell'emoglobina introdotta, l'epitelio del rene si altera e si ha emoglobinuria. Non è dunque un processo di secrezione quello che compie il rene rispetto all'emoglobina; è invece un processo di *decomposizione*. In altre parole, il rene è attivo non per eliminare l'emoglobina come tale, ma

(1) Loc. cit.

per distruggerla. Ne viene di conseguenza che l'emoglobina non passa nell'orina se non quando l'epitelio dei tubuli contorti ha sospesa o ha perduta la sua attività.

Questo modo di considerare le vicende a cui va incontro l'emoglobina nel rene, ci fornisce alcuni nuovi punti di vista nel campo della patogenesi della emoglobinuria. Anzitutto potremmo con esso apprezzare un po' meglio l'influenza misteriosa che ha il rene nel permettere o non permettere il passaggio della emoglobina nell'orina; potremmo inoltre comprendere meglio che non si sia compreso fino ad ora il giusto valore e l'importanza che spetta alle lesioni materiali del rene, quando esistono, nel contribuire alla produzione della emoglobinuria. Di più, in base a queste nuove conoscenze, noi possiamo intravedere l'esistenza di emoglobinurie larvate, in cui nell'orina in luogo di emoglobina dovrebbero trovarsi i prodotti della scomposizione di questa, cioè globuline, ferro ed ematoidina. Non è fuor di luogo intanto ricordare che si dànno accessi di albuminuria alternati ad accessi di emoglobinuria, e che la ematoidina (od ematoporfirina) è stata trovata più volte nell'orina assieme colla emoglobina (Beale), od in assenza di questa. Il ferro non è di solito ricercato, ma Cohnheim, che determinò quantitativamente il ferro in un'orina emoglobinurica, fu sorpreso delle forti proporzioni in cui la trovò ed ammise, in assenza di altre ipotesi possibili, che anche l'albumina che pareva libera in quell'orina dovea esser stata eliminata sotto forma di emoglobina.

Finalmente, noi abbiamo ora dinanzi una spiegazione possibile della parte che spetta a certi farmaci nella produzione delle emoglobinurie così dette tossiche. Ad alcuni di questi farmaci vediamo ora seguire l'emoglobinuria ed ora no. Questo è, per esempio, il caso del chinino. Oggi la spiegazione del fatto la possiamo avere facilmente se ammettiamo che il chinino non agisca se non per il potere che esso ha di paralizzare o attenuare l'attività funzionale del protoplasma degli epiteti renali. Se allora l'emoglobina preesiste allo stato libero nel plasma, la inattività dell'epitelio renale potrà essere

causa che essa passi nell'orina, ma se non esiste la emoglobinemia, all'assunzione del chinino non potrà seguire emoglobinuria. Con ciò siamo ancora ben lontani dalla spiegazione di quel complesso di fenomeni provocati dal chinino e costituenti l'accesso di febbre ittero-emoglobinurica. Siccome in questi casi, come Murri afferma e come pare vero, è la febbre che è causa della dissoluzione globulare (senza dubbio col disordine idraulico che essa produce), così bisognerebbe anzitutto dare la ragione del meccanismo per il quale in questi casi il chinino suscita la febbre. Ma anche lasciando insoluta questa parte del problema della emoglobinuria da chinino, l'ipotesi sopra enunciata intorno alla parte che spetta al rene, per essere attendibile, esigerebbe che si potesse in un animale reso prima, in qualsiasi modo, emoglobinemico, determinare od almeno aumentare l'emoglobinuria mediante iniezioni di chinino. Per intanto non nascondo che il concetto di una inattività dell'epitelio renale, come fattore di emoglobinuria, apparentemente non si conciglia col fatto osservato da Adami, che se ad un animale reso precedentemente emoglobinurico, si inietta del nitrato di soda, eccitando così il rene a maggior lavoro, la escrezione di emoglobina aumenta. Si può tuttavia pensare che il nitrato di soda si opponga ad una elaborazione della emoglobina per parte dell'epitelio renale, richiamando questo ad un genere diverso di attività. L'emoglobina, già filtrata attraverso i glomeruli, viene allora espulsa, senza arrestarsi in quei punti (tubuli contorti) dove, sotto altri rapporti, verrebbe trattenuta e decomposta.

Il concetto patogenico dell'emoglobinuria, quale ci è consentito dalle attuali conoscenze, può essere così riassunto.

A produrre l'emoglobinuria devono concorrere tre diversi momenti:

1° Un'alterazione del sangue (preesistente);

2° Un'alterazione circolatoria (accesso);

3° Una lesione del rene (di solito soltanto funzionale).

L'alterazione del sangue può teoricamente colpire i globuli o il plasma; essa conduce, mediante l'intervento di certe condizioni, alla dissoluzione di una parte dei globuli, la cui emoglobina passa nel sangue. Un'alterazione primitiva dei globuli nel senso di una anormale vulnerabilità al freddo ed alle azioni meccaniche, non è punto dimostrata; tuttavia si può pensare che per un'anomalia degli organi ematopoietici possano generarsi dei globuli forniti di debole resistenza. In ogni caso però le alterazioni del plasma devono entrare in causa. Esse sono un fatto indiscutibile per le emoglobinurie tossiche e per quelle legate a malattie infettive, e sono state dimostrate da Hayem e da Viola per la emoglobinuria parossistica essenziale. In questa la alterazione del plasma è primitiva e consiste in una proprietà del siero di provocare la dissociazione dell'emoglobina dagli stromi globulari.

L'alterazione circolatoria è accessuale ed è prodotta da turbamenti vaso-motori (facile esauribilità dei centri vaso-motori) e mantenuta in certi territorî vascolari dalla proprietà delle pareti delle vene di riacquistare difficilmente il calibro primitivo dopo essere state distese. L'alterazione circolatoria determina essenzialmente l'accesso provocando l'emoglobinemia, a quanto pare, per un rallentamento del legame che unisce le sostanze costituenti la fibrina a quelle del siero (in modo analogo a ciò che avviene nella coagulazione) per cui il siero, venendo in contatto coi globuli rossi, esercita su di essi la sua azione dissolvente, appropriandosi l'emoglobina.

La lesione del rene consiste in una temporanea perdita della proprietà che possiede l'epitelio dei tubuli contorti di scomporre l'emoglobina separandone il ferro. È questo l'ultimo atto del processo patogenico dell'emoglobinuria, senza del quale nell'orina non passa emoglobina; ma potranno passare i prodotti della sua scomposizione, cioè albumina, ematoidina e ferro.

NUOVE PUBBLICAZIONI

F. Bottazzi. — *Chimica fisiologica per uso dei medici e degli studenti.* 2 volumi. — Milano, Società editrice libraria, 1898 e 99.

Il trattato del Bottazzi oltre ad essere il primo scritto da un italiano, si distingue da tutti gli altri per la disposizione originale della materia e per l'inclusione di argomenti che invano si cercherebbero in altri trattati di chimica fisiologica. Il primo volume è dedicato alla chimica fisiologica generale, vale a dire allo studio delle varie sostanze che entrano nella composizione degli organismi, sali, grassi, idrati di carbonio e sostanze proteiche con i loro derivati. L'autore studia tali sostanze dal punto di vista chimico, ne esamina la distribuzione nell'organismo, le loro genesi e le trasformazioni che esse subiscono. Degna di nota è qui l'introduzione dello studio della fisico-chimica applicata alla fisiologia: a tale argomento è dedicata buona parte del capitolo sui sali e di quella sulle sostanze colloidi; la competenza dell'autore in tale argomento, al quale ha dedicato — uno fra i primi in Italia — buon numero di ricerche personali, rende questo uno dei capitoli più interessanti del suo trattato. Importante è pure la nuova classificazione che delle sostanze proteiche dà il Bottazzi e che è stata recentemente accettata anche da altri autori. — Il secondo volume comprende la chimica fisiologica de' vari tessuti; anche qui troviamo un'innovazione veramente felice nel capitolo che tratta della chimica della cellula: tale argomento è stato trascurato in modo deplorevole dagli altri autori. — Il trattato del Bottazzi, scritto in modo limpido e chiaro, corredato di una ricca bibliografia, si raccomanda oltre che per l'originalità nella trattazione della materia, anche per i meriti intrinseci e per la coltura chimica e fisiologica che rivela nell'autore.

A. Herlitzka.

Guglielmo Wundt. — *Compendio di psicologia.* — Trad. sulla 3ª ediz. ted. dal dott. Luigi Agliardi. — Torino, Clausen, 1900.

In questo compendio il Wundt ci presenta nella forma ultima e più completa tutta la sua psicologia. In una lunga introduzione espone la sua concezione sul carattere, sull'ufficio e sul metodo della psicologia, contrapponendola a tutti i principali indirizzi che ci mostra la storia di questa scienza. La psicologia è per il W. la scienza più strettamente empirica, come quella che ha a base l'esperienza immediata, cioè l'esperienza nella sua integrità, non fatta astrazione dal soggetto conoscente. E l'esperienza oggetto della psicologia non è diversa da quella oggetto della scienza naturale perchè l'esperienza in sè unica è dalla scienza naturale

considerata solo da un altro punto di vista, mediatamente, cioè fatta astrazione dal soggetto conoscente. Il W. in contrapposizione all'indirizzo intellettualistico chiama volontaristica la sua psicologia perchè essa considera il volere come la forma tipica dei fatti psichici, considera cioè i fatti psichici come processi che continuamente si svolgono e non come entità fisse immutate. La psicologia quale scienza di processi deve essere essenzialmente sperimentale: l'osservazione gioverà essa pure là dove i processi per l'ampiezza loro non posson esser seguiti e regolati dallo sperimentatore come nella psicologia sociale. Gli elementi psichici, le formazioni psichiche, la connessione delle formazioni psichiche, gli sviluppi psichici, la causalità psichica e le sue leggi sono i grandi capitoli nei quali è distribuita la materia. Una speciale considerazione merita l'ultimo capitolo, ove sono esposte le intenzioni filosofiche dell'A. sulla psicologia e si toccano tutte quelle questioni che un tempo si credeva sole costituissero l'argomento di questa scienza. Al concetto della sostanzialità dell'anima, che per tanto tempo tenne il campo e fu causa di tanti errori, il W. contrappone il concetto dell'attualità dell'anima; spiega il valore empirico del parallelismo psicofisico e, dimostrato che non tutti i fatti possono essere assunti sotto questo principio, conchiude all'esistenza di una causalità psichica indipendente, che ha leggi proprie: leggi di relazione e di evoluzione.

Non dubitiamo che quest'opera tanto importante sarà letta e discussa e bene influirà sullo sviluppo degli studi psicologici in Italia, e però ci rallegriamo di questa traduzione della cui fedeltà è garanzia la revisione del dott. F. Kiesow. SACERDOTTI.

RIVISTA BIBLIOGRAFICA

Dr. V. Diamare. — *Studii comparativi sulle isole di Langerhans del pancreas.* Memoria I. (*Internat. Monatschr. f. Anat. u. Phys.*, 1899, Bd. 16, n. 7-8).

Id. — *Sul valore anatomico e fisiologico delle isole di Langerhans.* (*Anat. Anzeiger,* 1899, Bd. 16, n. 19).

L'A. nel primo lavoro tratta dei corpi di Langerhans in diverse classi di vertebrati: teleostei, rettili, mammiferi, uccelli, anfibii.

Secondo l'A. le isole del Langerhans rappresenterebbero un primitivo derivato del pancreas; egli ha riscontrato, è vero, in molti rettili le isole separate per mezzo d'una capsula dal rimanente tessuto zimogenico, ma esclude che questa capsula possa essere interpretata come un carattere che avvalori la credenza che il tessuto da essa racchiuso sia qualche cosa di affatto estraneo al pancreas. La capsula è soltanto una secondaria modificazione che in particolari condizioni concorre a rendere sempre più

distinto dal tessuto pancreatico un tessuto che pur da questo è derivato. I corpi di Langerhans non sono il prodotto di una derivazione o metamorfosi, che si svolga nel tessuto zimogenico durante la vita autonoma, ma sono corpi epiteliali derivati durante la vita embrionale dal pancreas costanti e invariabili.

Nega poi l'esistenza di canalini escretori appartenenti alle isole, non crede che i corpi di Langerhans siano deputati a secernere qualche costituente del complesso succo pancreatico o che siano dei corpi linfoidi, ma ritiene che *questi corpi costituiti da tessuto epiteliale disposto in pieni cordoni ramosi riccamente vascolarizzati, si possano mettere tra le glandule chiuse o endocrine e si possano paragonare ai corpuscoli di Stannius ed alle paratiroidi.*

Nel secondo lavoro poi il dott. Diamare, confermando le idee già svolte, insiste nelle sue conclusioni, opposte a quelle cui son venuti il Giannelli e il Laguesse, e conclude che: *Non devesi solo annettere un'importanza morfologica alle isole di Langerhans, non rappresentando esse una porzione rudimentale di pancreas persistente nel pancreas, ma delle vere e proprie glandule a secrezione interna, anche dette glandule vascolari. Il tessuto endocrino del pancreas non è prodotto di alternata metamorfosi del tessuto esocrino nel corso della vita, ma è costante ed invariabile.*

MANISCALCO.

Luigi Sala. — *Sullo sviluppo dei cuori linfatici e dei dotti toracici nell'embrione di pollo.* (*Monitore Zoologico Italiano*, anno X, n. 10, 1899).

Dopo aver accennato alla scoperta dei cuori linfatici nell'oca, per opera di Panizza, e riferite le conclusioni di Budge che ne dimostrò l'esistenza nel pollo durante il periodo embrionale e la scomparsa nella vita adulta, l'A., per mezzo di una serie di ricerche istituite nell'embrione di pollo, espone la storia completa del loro sviluppo. La presente comunicazione riveste pure carattere polemico, poichè le conclusioni cui giunse l'A., per quanto riguarda le comunicazioni dei cuori linfatici col sistema venoso e col sistema linfatico generale discordano alquanto da quelle del Budge.

I dotti toracici, che compaiono nell'embrione di pollo quando già i cuori linfatici sono formati, cioè sul finire dell'8° giorno, prendono origine, secondo le ricerche dell'A., da una speciale formazione nel mesenchima che circonda immediatamente a destra le pareti dell'aorta, a sinistra quelle del *ductus Botalli* sinistro, in corrispondenza del punto in cui questi vasi descrivono le loro arcate per portarsi dal cuore alla faccia ventrale della colonna vertebrale. In corrispondenza dell'origine del n. celiaco essi vengono a confondersi in un sistema di spazii costituente un vero plesso linfatico, cui dalla regione caudale arrivano due vasi linfatici che si sono formati l'uno a destra, l'altro a sinistra, nel mesenchima circondante l'aorta addominale, e precisamente in corrispondenza della faccia dorso-laterale di questa.

L'A. si riserva poi di pubblicare per esteso, corredata da figure la descrizione particolareggiata dei varii periodi di sviluppo.

FRATTIN.

G. Romiti — *Sul distacco della placenta nella donna.* — (Estratto dai Processi verbali della Società Toscana di Scienze Naturali. Adunanza del 1° novembre 1899).

L'A. espone brevemente le opinioni di Leopold, Paladino, Rathcke, Ruge, Hofmaier, Minot sulla linea nella quale avviene il distacco della placenta, e di poi riconosce che, dopo recenti sue ricerche ed osservazioni, deve giungere alle stesse conclusioni a cui lo portarono i suoi lavori del 1873-76, che cioè:

1° Il distacco normale della placenta più comunemente avviene nello strato più profondo o compatto della serotina, o placenta materna. Lo strato lacunare rimane nell'utero.

2° Esiste la degenerazione grassa delle cellule della serotina là ove il distacco avviene. Pozzi.

G. Romiti. — *Sull'anatomia dell'utero gravido.* — III. *Le vie sanguigne nella placenta.* — Estratto del *Monitore zoologico ital.*, anno X, n. 12, 1899.

Romiti riconosce quanta sia la disparità d'opinione e di resultati degli Autori riguardo alla circolazione sanguigna della placenta, disparità che egli attribuisce all'aver forse essi fatte osservazioni su placente e uova di diversa età di sviluppo. Espone quindi i risultati delle sue ricerche istologiche, dai quali trae le seguenti precise ed importanti conclusioni:

che nel villo fetale permane quale sottile pellicola la parete lacunare materna;

che nello strato lacunare, corrispondente alla placenta materna, tra gli spazi lacunari vasali vi sono, anche a termine di gravidanza, dei lumi ghiandolari delle ghiandole otricolari dell'utero con il loro epitelio ben mantenuto;

che negli spazii intervillosi trovansi nei primi tempi di gravidanza prodotti di disfacimento e di elaborazione cellulare (Tafani-Paladino), a circolazione completa vi è sangue;

che infine spetta a Tafani il merito di avere per il primo determinato il modo di circolazione nei singoli cotiledoni placentari. Pozzi.

G. Bizzozero, *Direttore Responsabile.*

Torino. — Tipografia Vincenzo Bona.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XXIV. N. 5.

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Torino.
(Prof. Foà).

CONTRIBUTO

ALLO

STUDIO DEI GLIOMI DEL CERVELLO

DEL

Dott. **A. FABRIS**

I Assistente.

La conoscenza anatomica ed istologica dei gliomi del sistema nervoso centrale ha condotto alla ipotesi, che probabilmente tali neoplasie rappresentino il prodotto di un pervertimento nello sviluppo di alcune parti dell'asse cerebro-spinale, destinate più tardi a divenire la sede del tumore.

I gliomi della retina ed il cosidetto neuroglioma ganglionare traggono con tutta verosomiglianza la loro origine da anomalie di prima formazione, anzi il neuroglioma si può considerare come un vero fatto teratologico locale del cervello. L'aspetto generale di questi tumori, il loro modo di accrescimento, il rapporto di alcuni gliomi con l'ependima ventricolare e la concomitanza non infrequente di manifeste aberrazioni di sviluppo nel medesimo organo, rappresentano i dati principali su cui si fonda l'ipotesi della loro origine teratologica.

Di grande importanza per le dottrine più recenti sullo sviluppo delle gliosi in generale e dei gliomi in particolare

è l'osservazione fatta per la prima volta esattamente da Stroebe (1), circa la presenza di germi ependimali aberrati nella compagine di un tumore gliomatoso. In un vero glioma del cervello questo autore riscontrò delle cavità rivestite da epitelio cubico e cilindrico regolarmente disposto in un solo strato. Tali cavità di forma rotondeggiante od ovale, del diametro approssimativo del canale centrale del midollo o leggermente più grandi, erano rivestite o in tutta la loro circonferenza o solo in parte da epitelio. All'esterno esse confinavano con il tessuto proprio del tumore, che generalmente era in istato di rammollimento. Il tumore passava gradatamente nella circostante sostanza nervosa normale, senza l'intermezzo di una zona degenerativa limitante od una proliferazione reattiva del tessuto connettivo-vascolare, come avviene per esempio nel caso di tumori sarcomatosi o tubercoli solitari.

Non vi può essere dubbio che gli otricoli e zaffi epiteliali osservati da Stroebe, fossero una derivazione dell'epitelio del tubo nervoso primitivo e rispettivamente dell'epitelio dei ventricoli laterali. Bisogna perciò considerare dette cavità come il prodotto di una alterazione di sviluppo, avvenuta nell'epoca embrionale. Questa alterazione nello sviluppo ha condotto alla formazione di abnormi diverticoli con rivestimento epiteliale, derivati da quella porzione del tubo nervoso, che più tardi ha formato il ventricolo laterale.

Secondo Stroebe, il punto di partenza dello sviluppo del tumore va cercato nella proliferazione di cellule derivanti dagli epitelî degli otricoli ghiandolari eterotopici; esse per una progressiva e lenta evoluzione si sono trasformate nel tessuto di nevroglia. Questo fatto starebbe in armonia con le recenti osservazioni embriologiche di His, Ramon y Cayal, Kölliker, secondo le quali la glia non sarebbe che un derivato dall'epitelio del canale nervoso primitivo.

La prima esatta osservazione di germi ependimali aberrati nella compagine dei gliomi è questa di Stroebe. Anterior-

(1) Stroebe, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XVIII, 1895.

mente Buchholz (1) aveva descritto in un glioma della metà anteriore dei due emisferi, alcune cavità rivestite da cellule cubiche somiglianti ad elementi epiteliali. Però questo autore, pur riconoscendo la somiglianza di tali elementi con l'epitelio della superficie ventricolare, credette trattarsi piuttosto di trasformazione di elementi di nevroglia nella vicinanza di un focolaio di rammollimento del tumore. La distanza troppo considerevole della cavità dalla superficie ventricolare e la mancanza di rapporti di continuità con il ventricolo medesimo, non sono secondo Stroebe, ragioni bastevoli onde escludere la possibilità che si fosse trattato di otricoli ependimali aberrati. Infatti può darsi che i diverticoli laterali abnormi siansi ancora nell'epoca embrionale liberati dalla continuità con l'ependima ventricolare e la distanza può essere spiegata dal successivo accrescimento della mâssa cerebrale e del glioma.

Nella stessa maniera di Buchholz vengono da Borst (2) interpretate delle cavità rivestite da epitelio, che ebbe opportunità di osservare in alcuni focolai di sclerosi.

Secondo Stroebe dovrebbero considerarsi come emanazioni del canale centrale le cavità rivestite da elementi simili ad epitelio, riscontrate da Sokoloff (3) in un caso di glioma del midollo allungato. È poco probabile ad ogni modo l'ipotesi emessa da questo autore, che si fosse trattato di elementi endoteliali derivati dagli spazî linfatici.

Di recente Rosenthal (4) descrisse un tumore della regione dorsale del midollo, in cui riscontrò delle cavità di forma molto varia, rivestite da epitelio parte cubico, parte cilindrico, simile all'epitelio del canale centrale. Dallo studio della neoplasia l'A. è propenso ad ammettere, che questa abbia iniziato fin dalla nascita il suo lento sviluppo, traendo origine da una

---

(1) Buchholz, *Arch. f. Psych.*, Bd. XXII, 1891.
(2) Borst, Bericht über Arbeiten aus dem path. an. Inst. der Univ. Würzburg, 1898.
(3) Sokoloff, *Arch. f. klin. Medizin*, 1887.
(4) Rosenthal, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XXIII, 1898.

primitiva gemmazione del canale centrale resasi da esso indipendente.

È da ricordare inoltre l'osservazione di Saxer (1), che trovò in un bambino di sette settimane un teratoma del terzo ventricolo, in cui esistevano delle cavità di forma differente circondate da masse epiteliali in denso strato. Complessivamente si aveva l'immagine di un canale midollare di giovanissimo embrione colto nelle più svariate direzioni.

Nel lavoro di Rosenthal è fatto cenno di un' osservazione in via di pubblicazione del dott. Glücksmann di Friedrichshein sopra un glioma sviluppatosi dal tetto del quarto ventricolo, dove; specialmente nelle zone marginali della neoformazione, si notavano dei condotti ghiandolari a lume ristretto sparsi qua e là e rivestiti da epitelio cilindrico.

In confronto alla abbastanza frequente occasione di studiare istologicamente delle neoformazioni gliomatose, sono assai scarse le osservazioni che dimostrano la presenza di otricoli ependimali aberrati nella massa del tessuto neoplastico. Da una parte questo può dipendere dal fatto, che essi realmente in molti gliomi possono non esistere od essere scomparsi nella ulteriore evoluzione, come pure dal poter essere sfuggiti alla osservazione istologica, rappresentando essi una minima porzione del tessuto, relativamente alla massa voluminosa del tumore. Comunque, tali osservazioni bene accertate costituiscono un fatto importante dal momento che potrebbero in qualche modo spiegare non solo il punto di partenza del glioma, ma anche il modo del suo sviluppo e della sua evoluzione.

Per cortese consentimento del prof. Foà ebbi occasione di studiare un caso del genere ed ho creduto utile, considerata l'importanza dell'argomento, di renderlo noto. Il tumore fu raccolto in un individuo sezionato durante l'anno scolastico 1898-99 nell'Istituto di Anatomia patologica di Torino. Si trattava di un cadavere di sesso femminile dell'età d'anni 87. L'autopsia eseguita il giorno 11 aprile 1899 rilevò come causa

(1) *Ziegler's Beiträge*, Bd. XX, 1896.

di morte una bronchite diffusa con focolai sparsi di bronco-pneumonite catarrale acuta e nel resto un marasma universale abbastanza intenso. Il tumore aveva sede alla base del cervello e più precisamente posava sulla faccia inferiore di un lobo temporo-sfenoidale, più verso la linea mediana che verso l'esterno. La neoformazione era sessile, di forma rotondeggiante e del volume di un piccolo uovo di gallina. Veniva coperta dalla pia meninge, che alquanto ispessita in questa regione, mostrava i vasi assai iniettati di sangue, dilatati e tortuosi. Il tumore, facilmente isolabile dalla sostanza cerebrale, s'era come scavato una nicchia nel corrispondente lobo sfenoidale, le cui circonvoluzioni apparivano assai appianate ed atrofiche. Macroscopicamente sulla superficie di sezione presentavasi solido, compatto, di aspetto variegato dovuto a zone giallastre, più estese nelle parti centrali, miste a zone rossigne o rosso scure. Considerato nel suo insieme il tumore faceva pensare ad un grosso conglomerato di tubercoli, ma l'aspetto un po' diverso da quello che si osserva nei comuni tubercoli solitari del cervello, aveva fatto restare in dubbio sulla diagnosi. I pezzi furono fissati nei comuni liquidi (Foà, Zencker, Alcool) inclusi in paraffina o celloidina e le sezioni colorate in diversa maniera a seconda dello scopo. L'esame istologico dimostrò trattarsi di un tumore misto, di cui la parte centrale era di natura gliomatosa e la parte periferica di tessuto neoplastico d'origine connettiva.

Infatti la parte più corticale era costituita da un tessuto piuttosto compatto, ricco di elementi fusiformi allungati a nucleo intensamente colorabile. Frammisti a questi v'erano degli elementi connettivi di tipo più giovane. Con la colorazione di van Gieson si mettono bene in evidenza dei fasci di connettivo ondulati e sottili. Questa parte più periferica forma quasi una capsula connettiva al resto del tumore e da essa partono dei setti fibrosi convergenti verso il centro del medesimo. Subito sotto questa specie di capsula e nel tessuto della medesima si vedono dei vasi venosi assai dilatati con ispessimento delle pareti, corrispondenti ai grossi vasi che sol-

cavano la superficie del tumore. Il resto del tessuto fino al limite della zona centrale gliomatosa è costituito da una proliferazione di tipo endoteliale assai simile per struttura a quanto si osserva nei comuni endoteliomi della pia meninge. Infatti la neoformazione cellulare è in istretto rapporto con i vasi sanguigni, di maniera che tutto intorno a questi viene a formarsi un manicotto denso e ricco di elementi del tipo degli endotelî. I vasi sanguigni, relativamente alla parete loro di ampiezza notevole, sono provvisti di un rivestimento endoteliale ben visibile, i cui elementi sono assai ricchi di protoplasma e posseggono un nucleo relativamente grosso, mentre il resto della parete è rappresentato da un sottile intreccio di fasci connettivi con qualche nucleo allungato ed intensamente colorabile. La guaina linfatica di questi vasi, come fu detto, è occupata da una quantità di elementi neoformati, con grosso nucleo elittico abbastanza ricco di cromatina e con un protoplasma abbondante che conferisce agli elementi forma varia dalla rotondeggiante alla fusata. Talora questi elementi sono molto abbondanti e fittamente stipati, altrove invece sono più scarsi e quivi si osserva una rete sottile di connettivo formato da esili fasci di fibrille, nelle cui maglie stanno gli elementi cellulari a piccoli gruppi. Esistono inoltre sparse qua e là in questa zona del tumore delle cellule giganti; queste variano per forma e per grandezza come pure per quantità e posizione dei loro nuclei. Essi ora sono molto numerosi e situati per lo più nelle parti centrali della cellula, ora invece sono in numero scarso ed in questo caso sono di notevole dimensione e posseggono per lo più una forma lobulata. La disposizione di questi elementi giganti nel tessuto neoplastico è completamente irregolare, tanto pei rapporti con gli altri elementi circostanti, quanto per il numero, poichè mentre in qualche punto sono molto abbondanti, altrove invece compaiono singolarmente. Un particolare di struttura in questa zona del tumore è dato dalla comparsa qua e là di gruppi di vasi capillari piuttosto ampi e ravvicinati, provvisti di grossi elementi endoteliali e con un tessuto interstiziale formato da cellule a

grosso nucleo del medesimo tipo. In sostanza la parte periferica del tumore ha i caratteri di una neoformazione fibro-endoteliale con elementi giganti e teleangeotasie capillari. Nei punti che più si approssimano alla netta struttura endoteliale, si nota, quantunque assai di raro, qualche distinta figura cariocinetica.

Invece la parte centrale del tumore, ben limitata da questa zona periferica, era costituita da evidente tessuto gliomatoso. Non ostante l'estesa degenerazione del tessuto in questa parte del tumore, si poteva però in parecchie zone dimostrare in modo evidente la presenza di un tessuto di nevroglia, specialmente usando della colorazione di Mallory e del metodo di Weigert (1) per la colorazione specifica di quel tessuto. Riguardo a quest'ultimo metodo conviene far notare che quantunque i pezzi non fossero stati fissati secondo le norme di Weigert, pure si ottennero delle buone colorazioni della glia. Anche Rosenthal riferisce di aver ottenuto, nel caso da lui descritto, delle buone colorazioni specifiche da pezzi fissati in liquido di Zenker.

La rete di fibre era caratteristica ed assolutamente non aveva somiglianza con i prolungamenti delle cellule sarcomatose che talvolta possono simulare un intreccio di nevroglia. Nei punti privi di metamorfosi granulare e di scomposizione di fibre, queste apparivano piuttosto grosse e rigide e si potevano seguire per lungo tratto nel loro spessore pressochè uniforme.

L'elemento cellulare scarseggiava ed era rappresentato da nuclei piuttosto grossi, rotondeggianti con poco protoplasma sparsi in mezzo alla rete fibrosa. I vasi sanguigni numerosi ed assai dilatati presentavano spesso occlusioni trombotiche, assai evidenti nei punti maggiormente degenerati. Di frequente notavasi la presenza di sangue stravasato nello spessore del tessuto.

---

(1) Weigert, « Beit. z. Kenntniss der normalen mensch. Neuroglia », Frankfurt a/M., 1895.

Il reperto più importante consisteva nella presenza dentro la zona gliomatosa di isole di epitelio disposte in lunghi e ramificati otricoli ghiandolari, i cui elementi erano perfettamente conservati.

Questi erano di aspetto assai simile all'epitelio dell'ependima



Anse di epitelio nel centro del glioma.
(Reichert, Ob. 3, Oc., 3).

ventricolare. Erano cioè di forma cubica, di altezza uniforme e con un nucleo rotondeggiante ben tingibile situato in ogni elemento presso a poco alla medesima altezza, verso l'impianto della cellula sulla membrana basale. Disposti fittamente l'uno presso l'altro in un solo strato, di solito formavano degli zaffi ghiandolari a lume sottile, mentre altrove circoscrivevano delle cavità alquanto ampie, contenenti solamente degli elementi desquamati. Questi germi di epitelio con ogni probabilità di origine ependimale, erano situati quasi nel centro del neoplasma e vicino ad un nucleo centrale più cospicuo, ad una certa distanza, esistevano due o tre altri aggruppamenti di anse epiteliali di estensione più limitata ma della identica struttura. Con dei tagli in serie si riscontrò che questi diversi gruppi di formazioni epiteliali erano indipendenti gli uni dagli altri. Il tessuto circostante a queste zone di epitelio era poco

ben conservato presentandosi in istato di manifesta degenerazione, così che si prestava poco allo studio dei rapporti intimi di tali otricoli ependimali con gli elementi del tessuto gliomatoso vicino. Tra le diverse isole di epitelio qua e là si poteva notare la presenza di fibre di nevroglia ancora abbastanza bene conservate.

Nelle zone periferiche della parte gliomatosa non si poterono trovare, non ostante numerosi tagli fatti in molti pezzi del neoplasma, elementi epiteliali.

Importa far osservare l'assoluta mancanza di rapporti diretti fra gli otricoli aberrati e l'ependima ventricolare. Il tumore situato alla base dell'encefalo vicino alla regione ventricolare (dove avrà potuto con maggiore facilità formarsi un diverticolo abnorme) era completamente separato dalla cavità dei ventricoli, così che è esclusa la possibilità che i germi ependimali eterotopici potessero essere il prodotto di una proliferazione infiammatoria ed irritativa dell'ependima (ependimite, cisticerchi) o di una inclusione secondaria per accrescimento del glioma.

In conclusione il tumore descritto sotto il punto di vista istologico va considerato come un glio-endotelioma. In esso la parte centrale schiettamente gliomatosa, conteneva delle isole di epitelio simile all'epitelio ependimale, la parte periferica invece, che possiamo considerare originatasi dalla pia meninge, era costituita da una neoplasia fibro-endoteliale a cellule giganti.

Dal lato della istogenesi è senza dubbio un fatto interessante la presenza dei germi ependimali ricordati. Essi, secondo la dottrina di Stroebe, rappresenterebbero il punto di origine della neoplasia gliomatosa. Quando cioè nel periodo embrionale si forma un diverticolo abnorme ed eterotopico dell'ependima ventricolare, può avvenire che dal medesimo ed intorno al medesimo si origini un tessuto di nevroglia atipico ed eterotopico.

Teoricamente non si può negare valore alla ipotesi che le cellule generatrici della glia, una volta aberrate, possano de-

terminare lo sviluppo di un tumore o per lo meno di una produzione patologica di nevroglia (p. e. nella siringomielia, secondo Hoffmann e Schlesinger), presso a poco nello stesso modo con cui normalmente origina la nevroglia dalle cellule ependimali. Ed è arbitrario il non voler riconoscere una qualche importanza a tale dottrina sulla genesi dei gliomi, ammesse le osservazioni accertate sulla presenza di germi ependimali eterotopici in questi tumori. Almeno in questi casi è evidente un'anomalia di sviluppo nella zona neoplastica. Nè hanno grande valore le obiezioni mosse da Henneberg (1) a proposito di una ciste epiteliale, da lui osservata in un glioma. Il fatto cioè che tali cisti si trovano solo in punti circoscritti e la loro lunga conservazione nella compagine del tumore, dovrebbero secondo quest'autore dimostrare l'insostenibilità di tale dottrina. Ma invece è la loro presenza circoscritta e la lunga permanenza che possono spiegare il nesso evolutivo fra le cellule epiteliali e gli astrociti del neoplasma fino alla formazione del tumore. D'altra parte è noto che germi epiteliali, che formano il punto di partenza di tumori in altri organi, si possono conservare a lungo nel tumore stesso ed anche proliferare (residui dei corpi di Wolff nei tumori del legamento largo, ecc.).

Non si può negare che le cellule di nevroglia possano di per sè in un dato momento e in seguito ad uno stimolo ignoto moltiplicarsi abnormemente e dare origine ad un tumore di glia. Però in altri gliomi si deve cercare il punto di partenza in una anomalia di sviluppo del tubo nervoso primitivo. Questa può condurre alla formazione di abnormi ed eterotopici otricoli ependimali intorno a cui secondariamente si sviluppa il glioma. A quest'ultima categoria credo di dover ascrivere il caso descritto.

---

(1) Henneberg, *Arch. f. Psy. u. Nervenkr.*, Bd. 30, 1897.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 6.

Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Catania.

RICERCA MICROBIOLOGICA DELL'ARSENICO

NEI CADAVERI IN PUTREFAZIONE

ESPERIENZE

DEL

Dott. **Emilio DI MATTEI**
Interno presso l'Istituto di Medicina Legale dell'Università di Torino.

La resistenza dei veleni alla putrefazione, da lungo tempo, è stata prezioso oggetto di indagini sperimentali pel tossicologo ed in ispecie pel medico-legale che è sempre nel dovere di indicare al magistrato se e fino a qual punto la scienza possa, in date posizioni di fatto, rispondere alle esigenze della pratica forense.

Nessun argomento ci sembra di così grave importanza per la medicina legale come quello del grado vario di resistenza che i diversi veleni possono presentare alla decomposizione putrida: assai frequenti sono, pur troppo, i casi in cui, per sospettato veneficio, l'Autorità giudiziaria ordina l'esumazione di un cadavere e ne affida al perito i resti, più o meno putrefatti, per la ricerca della sostanza tossica.

Il soggetto che ci occupa, del resto, è di tale interesse che sebbene ormai si posseggano numerosi contributi di conoscenze sulla resistenza di alquanti veleni vegetali e minerali, tuttavia le lacune che rimangono sono lamentate dal Brouardel come altamente dannose.

Sulla resistenza di molti veleni vegetali alla putrefazione si sono già intrattenuti numerosi ed illustri osservatori che non sempre però sono stati concordi nei loro risultati. Cotesta resistenza dei veleni, assai lumeggiata dalle importanti ricerche essenzialmente del Dragendorff e del Pellacani, ha formato l'obbietto di non poche osservazioni di valenti tecnici, quali ad esempio quelle sulla resistenza della stricnina, dell'atropina, della morfina, della nicotina, della colchicina, della coniina, della veratrina, della fisostigmina, ecc.

Relativamente alla resistenza di alquanti veleni minerali si sa come essa sia grande, in quanto che taluni di questi veleni sono stati ritrovati in cadaveri completamente putrefatti.

Per le sostanze metalliche o metalloidi, i fatti hanno dimostrato luminosamente potersi dar prove del materiale del delitto, financo quando il corpo fosse convertito in terra sepolcrale (Filippi).

È noto, frattanto, che l'arsenico e le sue combinazioni resistano ed anche si fissano per un tempo assai lungo nell'organismo; e sebbene non sia ancora generalmente determinato con precisione questo periodo, non di meno si sa che esso può andare anche per parecchi anni dal momento della morte (Filippi).

Trattandosi di avvelenamenti con l'arsenico, osserva il Casper, ad un tempo molto più lungo di sei mesi dopo la morte, si sono eseguiti dissotterramenti ed aperture cadaveriche con pieno successo. Ed in proposito anche il Naunyn riferisce che l'arsenico può rintracciarsi dopo molti anni dalla sepoltura.

Per tal ragione, occorrendo una esumazione del cadavere di un individuo, nel quale si sospetti il veneficio per arsenico, i competenti di medicina legale consigliano — se fosse domandato parere sulla convenienza di tale pratica — chè la risposta sia sempre favorevole.

Ora, poichè l'arsenico è stato rinvenuto nell'organismo dopo molto tempo dalla morte, è facile rendersi conto come con gli

ordinarî metodi chimici di ricerca si possa riuscire a dimostrare il tossico anche nei cadaveri in putrefazione.

Ma, conosciuto questo fatto, che è di non lieve interesse per la pratica del Foro, si sente il bisogno di conoscerne un altro ora appunto che per la identificazione dell'arsenico si possiede un metodo assai pregevole: il microbiologico.

È possibile scoprire e dimostrare, col metodo microbiologico, l'arsenico nei cadaveri in putrefazione? Il complicato processo della decomposizione putrida non potrebbe forse esercitare taluna influenza modificatrice sulla sensibilissima reazione dell'arsenico, dovuta esclusivamente alla misteriosa attività biologica di un microfita?

A noi sembra di non poca utilità pratica verificare se anche nella putrefazione, e fino a che epoca di putrefazione, il metodo microbiologico è applicabile alla ricerca dell'arsenico; poichè può darsi bene che nel decorso del complicato processo putrefattivo, vi sieno dei microrganismi i quali abbiano potere riduttore in modo che, decomponendo l'arsenico, questo non venga più a trovarsi nelle condizioni di esser rilevato col *penicillum brevicaule*.

Quando si pensi, infatti, che durante il decorso della putrefazione i cadaveri, o gli avanzi di essi, possono essere invasi e ricoperti da ricche vegetazioni di muffe (*mucor*, *aspergillus*, *penicillum*, ecc.) e di altri numerosi germi, non ci sembra fuor di proposito supporre che tali microrganismi, vivendo in contatto del composto arsenicale contenuto, ad esempio, nei visceri di un cadavere, spieghino su quello tutta la loro attività riduttrice o trasformatrice, e quindi compromettano ulteriormente l'esito di una normale ricerca microbiologica. Di fatti, in conseguenza dell'avvenuta trasformazione o volatilizzazione del composto arsenicale, il *p. brevicaule* potrebbe rimanere inattivo ed incapace di produrre lo sviluppo del gas agliaceo per esservi stato già un precedente processo di riduzione. Onde, dato il caso pratico di una esumazione giudiziaria per sospettato veneficio arsenicale, dopo un certo tempo dal sotterramento del cadavere, cioè dopo un certo pe-

riodo di decomposizione putrida, noi, col metodo microbiologico, potremmo forse non più rilevare il tossico proprio là dove con ogni certezza esisteva.

Nello intraprendere lo studio dell'argomento, abbiamo creduto opportuno tener conto delle modificazioni che il processo putrefattivo subisce in più o in meno a seconda di una grande quantità di cagioni intrinseche od estrinseche all'individuo fatto cadavere.

Ricordiamo che generalmente il processo della putrefazione può svolgersi in mezzo all'aria atmosferica, entro l'acqua, sotto terra; e sappiamo che, per la loro diversa natura, questi tre *medium* spiegano diversa influenza sull'andamento della putrefazione. La comune osservazione rileva, in fatti, che all'aria aperta, appunto per la ossigenazione più ricca degli elementi organici, la putrefazione procede più rapida di quanto non avvenga sotto terra (Filippi).

Nelle tre probabilità pratiche che l'individuo cadavere, su cui il perito-legale è chiamato a compiere la ricerca tossicologica dell'arsenico, possa venire ritrovato all'aria libera, ovvero nell'acqua, ovvero sotto terra, noi abbiamo instituito tre serie di esperienze, per le quali ci siamo giovati di animali di specie diversa, avvelenati con arsenito di soda ed ora sotterrati, ora sommersi nell'acqua, ora abbandonati a putrefare liberamente all'aria; portando poi l'esame microbiologico sul fegato, fino a che il periodo di decomposizione putrida non è stato così inoltrato da non permetterci più di ben distinguere e di raccogliere esclusivamente il detto organo. Nei periodi di dissoluzione molto avanzata, quando non è stato più possibile ricavare nettamente il fegato o altro parenchima, per essersi ridotto il cadavere ad una massa informe, allora si è condotta la ricerca sopra quei detriti molto complessi, risultanti dalla distruzione del cadavere.

Tra i diversi visceri addominali, si è preferito il fegato — finchè si è potuto — per il predetto saggio tossicologico, ap-

punto perchè, com'è risaputo, tanto nell'acuto quanto nell'avvelenamento cronico da arsenico, è il fegato l'organo che contiene la più forte proporzione centesimale del tossico, e che per molto tempo conserva localizzato il veleno.

Quanto al metodo di indagine microbiologica, ci siamo attenuti a quello delle colture alla Roux, introducendo cioè una piccolissima quantità del materiale d'esperimento in un foro, praticato in una fetta di patata, e quindi ponendo ogni cosa in un tubo con strozzatura verso il fondo cieco. La sterilizzazione e l'innesto del *p. brevicaule* sono seguiti nel modo che abbiamo già dettagliatamente descritto in altro lavoro sull'argomento (1).

Riassumeremo per brevità, nelle seguenti tabelle i risultati della ricerca microbiologica, durante il periodo di putrefazione studiato, avvertendo fin da ora che ometteremo il reperto necroscopico dei singoli cadaveri, perchè di nessuno interesse per lo scopo della ricerca, la quale non si propone punto lo studio del decorso della putrefazione.

Putrefazione all'aria.

In questa prima serie di esperimenti, si sono avvelenati gli animali con arsenito di soda in soluzione acquosa, ora per la via gastrica ed ora per la ipodermica; quindi, avvenuta la morte, si sono abbandonati a putrefare liberamente all'aria per quel periodo di tempo che determinatamente volevasi studiare. Trascorso il termine stabilito, si è proceduto alla ricerca della sostanza tossica, come è stato già detto, ricorrendo al metodo microbiologico.

---

(1) Cfr. « Il criterio microbiologico nella diagnosi medico-legale dell'avvelenamento per arsenico » (*L'Ufficiale sanitario ; Riv. d'Igiene e med. prat.*, anno XI, 1898.

Nº d'ord. delle esperienze	Animale di esperimento	Peso dell'animale	Via d'avvelenamento	Quantità del tossico somministrato	Durata di putrefazione all'aria	Materiale d'esperimento	Risultato della ricerca micro-biologica
		Kg.		gr.			
1	Cavia	0,855	digestiva	0,10	5 giorni	Fegato	Positivo
2	Cane	5,00	id.	3,00	15 »	id.	id.
3	Cavia	0,680	ipodermica	0,06	25 »	id.	id.
4	Coniglio	1,200	id.	0,06	30 »	id.	id.
5	Coniglio	1,250	id.	0,06	40 »	Poltiglia addominale	id.
6	Cavia	0,725	digestiva	0,08	60 »	Detrito putrido del cadavere	id.

Dai cadaveri degli animali delle ultime due esperienze (5ª e 6ª) non è stato più possibile raccogliere nettamente il fegato: infatti, nella cavità addominale, i visceri si sono presentati come una massa informe di color verdastro, costituendo un tutto putrido e melmoso col contenuto degli intestini. — La ricerca del tossico è stata quindi praticata su di una piccola porzione della massa verdastra e putrida, raccolta in varî punti, non potendo precisare bene la natura dell'organo o del tessuto.

Invece nelle esperienze di minore durata di tempo, 5-15 giorni (Esp. 1ª e 2ª) ci è stato facile prelevare parti di sostanza del fegato, perchè sebbene il cadavere fosse pieno di numerosissimi insetti, vermi e larve, la cute erosa, rammollita, distrutta, lo stomaco e gl'intestini ridotti ad una poltiglia bruno-verdastra, pure il fegato benchè di consistenza molliccia, spappolabile, di colorito bruno verdognolo, era abbastanza ben riconoscibile nella sua massa.

Non così facile ci fu nelle esperienze di maggior durata di tempo, 25 a 30 giorni (Esp. 3ª e 4ª) la raccolta del materiale, poichè essendo il cadavere in avanzata dissoluzione, i visceri erano appena distinguibili, confusi in una massa putrilaginosa verde-scura. In qualche punto della faccia i tessuti molli perfettamente distrutti lasciavano allo scoperto le ossa del mascellare; e pur tuttavia era ancora discernibile la massa del fegato nerastro ridotto a poltiglia con qualche frammento informe aderente al diaframma; e su essi frammenti cadde la ricerca.

Putrefazione sott' acqua.

In questo secondo gruppo di osservazioni, i cadaveri degli animali d'esperimento, avvolti in reticelle metalliche, subito dopo la morte si sommergevano in singole vasche piene di acqua, ciascuna della capacità di circa 30-50 litri di liquido, ed ivi, tenuti al fondo per mezzo di pesi, si abbandonavano al processo della decomposizione putrida per tutto il tempo che credevasi opportuno.

Di poi, si procedeva alla ricerca dell'arsenico col solito metodo delle colture alla Roux.

N° d'ord. delle esperienze	Animale di esperimento	Peso dell'animale	Via d'avvelenamento	Quantità del tossico somministrato	Durata di putrefazione sott'acqua	Materiale d'esperimento	Risultato della ricerca micro-biologica
		Kg.		gr.			
1	Cavia	0,655	gastrica	0,06	5 giorni	Fegato	Positivo
2	Cagna	4,00	id.	2,0	15 »	id.	id.
3	Coniglio	0,970	ipodermica	0,06	25 »	id.	id.
4	Cane	5,200	gastrica	3,0	30 »	Poltiglia di visceri addominali	id.
5	Cavia	0,810	ipodermica	0,05	40 »	Poltiglia di tessuti disfatti	id.

La ricerca del tossico nelle due ultime esperienze (4ª e 5ª) è stata eseguita su di una piccola quantità di poltiglia proveniente da visceri disfatti e sopra frammenti di parti molli di apparenza muscolare, perchè non si è potuto distinguere e raccogliere il fegato in mezzo allo sfacelo degli organi del cadavere.

All'incontro, nelle prime tre esperienze, che andavano dai 5 a 15 giorni, il fegato benchè disfatto, benchè ridotto a poltiglia, era sempre più o meno ben distinguibile e qualche frammento per la ricerca era facile prelevare.

È inutile qui accennare che la putrefazione del cadavere sott'acqua avvenne rapidissima. Fin dopo i primi giorni i peli caduti, la cute della testa distrutta, l'addome disteso notevolmente, dilatato da gas putrefattivi, i visceri addominali confusi in una massa poltigliosa, i tessuti superficiali, cute e muscoli imbibiti e verdastri.

Putrefazione sotto terra.

Le esperienze concernenti la ricerca microbiologica dell'arsenico nei cadaveri in putrefazione sotto terra, sono state incominciate nell'agosto del 1898 e terminate nel luglio 1899. I cadaveri degli animali avvelenati venivano rinchiusi in apposite casse di abete e sotterrati alla profondità di circa 60 cm. nel giardino annesso all'Istituto. — Dopo il periodo di tempo che giudicavasi opportuno per l'esperimento, si procedeva alla esumazione, e quindi praticavasi la ricerca tossicologica col solito metodo delle colture alla Roux.

N° d'ord. delle esperienze	Animale di esperimento	Peso dell'animale	Via d'avvelenamento	Quantità del tossico somministrato	Durata di putrefazione sotto terra	Materiale d'esperimento	Risultato della ricerca micro-biologica
		Kg.		gr.			
1	Cavia	0,710	digestiva	0,08	30 giorni	Fegato	Positivo
2	Cavia	0,585	ipodermica	0,05	60 »	id.	id.
3	Cane	4,750	digestiva	2,0	120 »	Detriti di visceri irriconoscibili	id.
4	Coniglio	1,800	id.	0,06	150 »	Poltiglia di organi disfatti e ciuffi di peli	id.
5	Cavia	0,745	id.	0,06	210 »	Detriti del cadavere	id.
6	Cavia	0,695	id.	0,06	270 »	id.	id.
7	Cavia	0,750	id.	0,08	350 »	id.	id.

Troppo lunga qui sarebbe, anche a volerla semplicemente accennare, la descrizione dello stato del cadavere, lungo il periodo di tempo esperimentato. D'altro canto, non essendo necessario per l'indole di questo lavoro, ci basti solamente rilevare che il lavorio della putrefazione era più o meno intenso a seconda la grandezza dell'animale. I cadaveri dei piccoli animali si putrefacevano più rapidamente. Già dopo 60 giorni i conigli e le cavie si presentavano in pieno sfacelo; e nell'estrarli dalla cassa ci era difficile perchè erano ridotti a masse informi; i muscoli erano poltiglia di colore ardesiaca; le ossa in parte denudate si staccavano con

facilità dai legamenti articolari quasi distrutti; i visceri della cavità addominale ridotti a liquame verdastro. E mentre prima di questo periodo, il fegato era ancora più o meno riconoscibile e facile ad essere prelevato per la ricerca, dopo tal tempo esso non si distingueva dal resto degli altri visceri, perchè tutto era caduto in una dissoluzione uniforme. Le cavità orbitali erano vuote e in molti punti lo scheletro privo delle sue parti molli; ossa nasali, mascellari, costole completamente denudate.

Anche nel cane, però dopo 120 giorni (3ª esp.), si potevano notare fatti pressochè analoghi, poichè i visceri della cavità addominale erano in completa dissoluzione ed irriconoscibili.

Nelle quattro ultime esperienze, i cadaveri degli animali si trovavano ora ridotti a una poltiglia densa e nerastra, ricoperta da ciuffi di peli, ora ad una massa informe di ciocche di peli nerastre, untuose e miste a terriccio, di ossa secche disarticolate e sconnesse e di materia nerastra. La ricerca del tossico si praticava su quei detriti molto complessi provenienti dal cadavere già ridotto ad informe massa.

Venuti alla fine della nostra ricerca, per maggiore chiarezza crediamo riassumere nella tabella seguente, i risultati della ricerca microbiologica dell'arsenico nei cadaveri esposti alla putrefazione nei differenti mezzi, ove già abbiamo stimato opportuno sperimentare.

Tabella riassuntiva dei risultati della ricerca microbiologica dell'arsenico nei cadaveri in putrefazione.

Dopo 5 giorni	Dopo 15 giorni	Dopo 25 giorni	Dopo 30 giorni	Dopo 40 giorni	Dopo 60 giorni	Dopo 120 giorni	Dopo 150 giorni	Dopo 210 giorni	Dopo 270 giorni	Dopo 350 giorni
Putrefazione all'aria.										
+	+	+	+	+	+					
Putrefazione sott'acqua.										
+	+	+	+	+						
Putrefazione sotto terra.										
			+		+	+	+	+	+	+

Con l'insieme delle varie osservazioni fin qui condotte, crediamo di aver assodato, in certo modo, il fatto interessantissimo che ci eravamo proposti di studiare. Se dunque dai risultati riferiti vogliamo trarre una conclusione, possiamo già enunciare, come principio generale, che il processo della putrefazione non rende punto meno sensibile la reazione microbiologica dell'arsenico.

Nei cadaveri degli animali abbandonati a putrefare all'aria ed in quelli esposti alla putrefazione sott'acqua non abbiamo potuto, per ragioni indipendenti dalla nostra volontà, praticare la ricerca biologica oltre un periodo di 60 o di 40 giorni dalla morte; però abbiamo ricercato il tossico financo dopo 350 giorni dalla morte negli animali inumati ed abbandonati alla putrefazione sotto terra. Il che ci sembra soddisfacente.

Del resto, si è accennato al principio di fatto che la putrefazione procede tanto più rapida quanto più il cadavere è esposto ad incontrare l'azione riduttiva dell'aria atmosferica, e tanto meno rapida, quanto più a quest'azione venga sottratto. Ed anzi, come criterio generale è ormai accettato che, data una temperatura approssimativamente eguale, offriranno press'a poco ugual grado di putrefazione i tre cadaveri di cui uno sia stato una settimana all'aria libera, l'altro due settimane sott'acqua, il terzo otto settimane sotto terra (Casper, Filippi, ecc.).

Nell'andamento della putrefazione si ha, dunque, il rapporto di 1 : 2 : 8 a seconda che il *medium* sia rispettivamente costituito dall'aria, dall'acqua, dalla terra. E di questo fatto noi teniamo conto a proposito del periodo non troppo lungo, al quale abbiamo limitato le indagini nella putrefazione all'aria e sott'acqua.

I risultati degli esperimenti registrati nella precedente tabella, riguardo alla influenza spiegata sulla reazione microbiologica dal processo putrefattivo nel limite di tempo esaminato, ci permettono frattanto di venire alle conclusioni seguenti:

1° Il complicato processo della decomposizione putrida, nei cadaveri degli animali, non modifica punto la sensibilità,

la squisitezza e la rapidità del metodo microbiologico per il riconoscimento dell'arsenico.

2° È possibile scoprire e dimostrare l'arsenico dopo 60 giorni di putrefazione all'aria libera.

3° È possibile scoprire e dimostrare l'arsenico dopo 40 giorni di putrefazione sott'acqua.

4° È, in fine, possibile scoprire e dimostrare l'arsenico financo dopo *dodici mesi* di putrefazione sotto terra.

Ora, data l'indole speciale della questione che ci occupa, non ci sembrano del tutto inopportune le poche considerazioni che seguono.

È notoria l'influenza delle circostanze intrinseche ed estrinseche all'individuo sul complicato processo della putrefazione. Sappiamo come da un canto l'età, il sesso, l'abito del corpo, la costituzione individuale, la grassezza e magrezza, lo stato delle parti del cadavere, la pregressa malattia e la sua indole, il tempo od il momento della inumazione, il genere di morte, ecc., e da un altro canto l'aria atmosferica, l'umidità, il calore, il caldo-umido, i liquidi fetidi o melmosi, i liquidi antisettici, i diversi gradi di profondità del terreno e la sua qualità, la vestitura o la nudità del cadavere, il parassitismo, l'incassamento, ecc. ecc. possono modificare, in maniera sorprendente, l'andamento della decomposizione, ora accelerandola o favorendola, ora ritardandola o arrestandola.

Tutta la lunga serie degli elementi che possono prender parte al complesso fenomeno, è dunque necessario osservare e notare con sottile accorgimento nella pratica ricognizione dell'epoca della morte, sia per ciò che riguarda la natura del *medium*, ovvero tutti gli attributi di calore, di umidità, composizione del *medium* in cui giacque il cadavere; sia per ciò che si riferisce alle condizioni dell'individuo quanto all'età, al sesso, all'abito del corpo, al genere di morte; sia per ciò che concerne tutti i cangiamenti di *medium* o tutte le oscillazioni delle estrinseche circostanze; ecc.

Però, qui aggiungiamo subito che l'osservazione prudente e minuziosa dei surriferiti dati di fatto e delle varie condizioni o cause che possono modificare in più o in meno l'andamento della putrefazione, e che quindi possono anche perturbare il sopra ricordato rapporto di 1 : 2 : 8 secondo i differenti *medium*, è assolutamente indispensabile sopratutto in quei casi forensi nei quali, interessando alla Giustizia punitiva la ricognizione dell'epoca della morte, devesi valutare in modo esclusivo il periodo di putrefazione in rapporto al tempo della morte dell'individuo.

Se, dunque, a taluno potrà sembrare che nelle nostre esperienze non si è tenuto conto abbastanza delle svariate cause modificatrici del processo putrefattivo in riguardo alla data del decesso, ricordiamo che con le nostre ricerche noi abbiamo voluto essenzialmente e principalmente verificare *se il metodo microbiologico fosse capace di scoprire e dimostrare l'arsenico anche nei visceri in putrefazione;* e, come è logico, per tale indagine ci è bastato il fatto di adoperare dei cadaveri di animali che per lungo tempo furono abbandonati all'azione dei microrganismi saprofitici.

È ovvio perciò che le conclusioni cui siamo pervenuti in seguito ai nostri risultati, rimangano sempre tali quali le abbiamo formulate, in quanto che se pur ci saranno state lievi oscillazioni nel grado della decomposizione cadaverica, non potranno certo far variare di molto i fatti da noi assodati e messi in chiaro. Del resto, qui, nel voler riferire all'uomo i risultati delle esperienze condotte sugli animali, non disconosciamo che, in pratica, possono avverarsi condizioni diversissime, le quali non sempre trovano conforto nell'esperimento di laboratorio: così nelle singole evenienze della pratica forense, potremmo magari ottenere dei risultati non concordi con quelli conseguiti con le ricerche di laboratorio, sia per il tempo vario della ricerca tossicologica nei cadaveri umani, sia per le quantità diverse di veleno introdotto, sia per il tempo vario trascorso fra introduzione e morte, sia per le leggi della distribuzione e della eliminazione del tossico stesso,

sia per mille altre circostanze ancora. A noi però basta l'aver messo in rilievo che anche in presenza di visceri putrefatti, la reazione microbiologica dell'arsenico non solo non viene mai a mancare, sibbene rimane sempre estremamente sensibile.

Non sapremmo, frattanto, porre termine al presente argomento, senza fare un brevissimo cenno del nuovo e indiscutibile valore che, in Medicina legale, viene ad assumere il metodo microbiologico come mezzo di riconoscere l'arsenico anche nei cadaveri in preda alla putrefazione.

L'utilità che ne ricava la pratica forense è assai grande, e non v'ha certo chi non intenda quante e quali risorse e facilitazioni pratiche non offra il detto metodo nella ricerca tossicologica dell'arsenico.

Basterebbe solo ricordare le lunghe e fastidiose operazioni ed anche i complicati apparecchi che ordinariamente si richiedono nella ricerca chimica dell'arsenico, per comprendere l'importanza della facile e rapida ricerca microbiologica, per la quale non si richiedono speciali apparecchi, nè speciali trattamenti, nè successive diagnosi differenziali.

La sensibilità estrema della predetta reazione microbiologica è, in fine, la vera condizione che, a parer nostro, rende il nuovo metodo addirittura prezioso.

Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Catania.

RICERCA MICROBIOLOGICA DELL'ARSENICO

NEI VISCERI CONSERVATI IN ALCOOL E IN FORMALINA

NOTA PRELIMINARE

DEL

Dott. **Emilio DI MATTEI**

Non è infrequente il caso che l'autorità giudiziaria — venendo in sospetto di un veneficio, per notizie estrinseche assunte o per gravi indizî avuti — qualche tempo dopo una prima perizia, ne ordini una nuova, sia perchè quella non è riuscita a scoprire od a confermare il delitto per insufficienza di prove, sia perchè i risultati positivi di quella vengono oppugnati dall'avvocato di difesa. Ed allora, in tale evenienza, non è raro che la giustizia, per la indagine tossicologica, consegni ad un nuovo perito legale dei visceri (appartenenti al cadavere della presunta vittima) i quali abbiano soggiornato più o meno a lungo in liquidi conservatori. Così nel noto caso dei dottori Modica, Misuraca ed Oliveri, ai quali, a fine di verificare un avvelenamento per fosforo, la giustizia affidava i visceri, conservati in alcool, di tre ragazzi morti con sintomi sospetti (1).

Nello svolgimento dell'istruttoria penale, poi, facilmente

(1) Modica, « Ricerca del fosforo e suoi prodotti inferiori di ossidazione nei visceri conservati in alcool » (*Giorn. di Med. Leg.*, 1897, n. 6).

accade che una perizia di tal genere si faccia eseguire anche dopo parecchi mesi da che i visceri sono conservati in alcool, ad esempio, o in altro liquido. Da ciò si comprende bene dunque la necessità di conoscere se, in visceri contenenti tracce piccolissime di veleno e messi in liquidi conservatori, è possibile riconoscere il predetto veleno; e d'altro canto importa altresì sapere fino a che epoca dalla conservazione nei detti liquidi, è possibile rintracciare il tossico, cioè fin dopo quanto tempo si potrà confidare nella probabilità di risultati positivi con la ricerca tossicologica praticata nei visceri.

Per alcune nostre esperienze è ora noto come l'arsenico, per mezzo della reazione microbiologica, possa rilevarsi in avvelenati anche dopo parecchi mesi dalla morte (1); ma non è affatto saputo se, o per quanto tempo, il metodo biologico sia capace di svelare il tossico nei visceri conservati in alcool od in altro liquido.

Sotto questo aspetto, ho pensato di esaminare la questione a fine di rendere pressochè completo lo studio del nuovo metodo per la ricerca dell'arsenico nelle sue varie applicazioni pratiche alla Medicina legale.

A questo riguardo, fin dallo scorso marzo (1899) ho conservato in alcool ed in formalina (soluz. al 2 °/₀) fegato, stomaco ed intestini col relativo contenuto, appartenenti ad animali (cani e cavie) morti per veneficio arsenicale acuto e cronico; poi, a diversi periodi di tempo, si è praticata sui detti visceri, la ricerca microbiologica dell'arsenico.

Mi limito qui a riferire semplicemente i risultati conseguiti fino al periodo studiato.

Visceri in alcool. — Prima che i visceri dei diversi animali avvelenati fossero messi in alcool, su di alcuni frammenti di essi facevansi — come prova — dei saggi preliminari per determinare la presenza ovvero per verificare l'assenza dell'arsenico; e quando il tossico era stato con sicurezza rilevato,

---

(1) Di Mattei, « Ricerca microbiologica dell'arsenico nei cadaveri in putrefazione » (*Arch. per le scienze med.*, vol. XXIV, n. 6).

allora i singoli visceri venivano conservati nell'alcool per quel periodo di tempo che giudicavasi opportuno all'esperimento.

I metodi seguiti per queste ricerche sono stati ora quello delle colture alla Roux, ora quello dei matracci alla Erlenmeyer. Non mi intrattengo a descriverli, avendo già avuto occasione di parlarne minutamente in altro mio lavoro (1).

Ecco il riassunto sintetico dei risultati:

Materiale di esperimento	Dopo un periodo di conservazione in alcool di									
	5 giorni	10 giorni	15 giorni	20 giorni	25 giorni	30 giorni	35 giorni	40 giorni	45 giorni	50 giorni
Fegato	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.
Stomaco e Intestino	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.

Visceri in formalina. — Le condizioni dell'esperimento sono state identiche a quelle descritte per i visceri conservati in alcool. In questa serie di esperienze si sono ottenuti risultati positivi fino ad un periodo di 60 giorni di conservazione dei visceri in formalina, come risulta dalla seguente tabella:

Materiale di esperimento	Dopo un periodo di conservazione in formalina di giorni						
	5	10	20	30	40	50	60
Fegato	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.	Ris. pos.
Stomaco e Intestino	id.	id.	id.	id.	id.	id.	id.

(1) Cfr. « Il criterio microbiologico nella diagnosi medico-legale dell'avvelenamento per arsenico » (*L'Uff. san., Riv. d'Igiene e di Med. prat.*, anno XI, 1898).

Qui, pertanto, è necessario aggiungere che, in molti casi, per avere la reazione dell'arsenico, ho dovuto per uno stesso viscere o sottoporre frammenti varî al saggio microbiologico, o ridurre il viscere a poltiglia e prelevarne una piccola quantità dalla massa ben rimescolata.

In ogni modo, dai dati esposti ci sembra di poter concludere:

1° Che nello stomaco, o nell'intestino degli animali, conservato in alcool o in formalina, fin dopo 50 giorni nel primo, e dopo 60 giorni nella seconda (epoca massima a cui s'è protratto l'esperimento) è possibile col metodo microbiologico mettere in rilievo le tracce infinitesime di arsenico esistenti nei detti visceri.

2° Che anche nel fegato tenuto in alcool o formalina è possibile dimostrare il tossico fin dopo 50 e rispettivamente 60 giorni dalla sua conservazione.

3° Che, trattandosi di esaminare visceri conservati in alcool o in formalina, siasi nel dovere di ricorrere per la ricerca dell'arsenico, anche al metodo microbiologico, e di non voler mai trascurare questo facile metodo di ricerca che spessissimo fornisce degli eccellenti risultati.

Istituto d'Igiene della R. Università di Catania.

LA PROFILASSI MALARICA

COLLA PROTEZIONE DELL'UOMO DALLE ZANZARE

ESPERIENZE

DEL

Prof. **Eugenio DI MATTEI**

La preservazione dell'uomo nei paesi di malaria, che è stata in ogni tempo la preoccupazione degli igienisti, dei medici e degli studiosi di questioni d'economia sociale, dopo aver seguito tutte le fasi incerte dello studio scientifico del parasita malarico, oggi più che mai si presenta sotto un nuovo ed importante indirizzo, che per fortuna dell'igiene sociale è facilmente e relativamente attuabile.

Dopo le prime e fortunate ricerche del Laveran, grazie agli studi della scuola italiana (ove in prima linea figurano i nomi di Celli, Marchiafava, Golgi, Grassi, ecc.) a quelli più recenti di Ross in India, a quelli di Koch nell'Affrica e in Italia, e a quelli ancora di altri benemeriti studiosi italiani e stranieri, l'arduo problema della etiologia della malaria, dello sviluppo del parasita, del modo di trasmissione dell'infezione, si può dire quasi ormai risoluto.

Analogamente infatti a quanto era stato dimostrato da Smith e Kilborne, e da Koch recentemente confermato, cioè che certe zecche sono indubbiamente il veicolo della così detta malaria o febbre dal Texas dei bovini, analogamente a quanto Ross sotto il consiglio di Manson scoperse per

gli uccelli, nei quali il veicolo della infezione sarebbe una speciale zanzara, anche oggidì per la malaria dell'uomo, le recenti scoperte hanno messo in chiaro che questa infezione all'uomo viene trasmessa per mezzo di peculiari insetti, rappresentati, secondo Grassi, Bastianelli e Bignami, da alcune specie di zanzare.

È ormai già noto come nell'intestino degli anofeli si compia il ciclo evolutivo della forma resistente del parasita malarico dell'uomo, e che la zanzara ne rappresenti l'ospite definitivo; mentre invece l'uomo, nel cui sangue lo sporidio compie la sua fase asporulare, ne sarebbe l'ospite temporaneo. È noto insomma che il ciclo dell'infezione malarica si svolge in una catena di due anelli, rappresentati dall'uomo e dalla zanzara; che l'uomo malarico infetta l'anofele sano, e che l'anofele così infetto, a sua volta colla puntura contagia l'uomo sano.

Non entriamo nella questione, se è la sola specie degli anofeli, o altre specie di culici quelle che hanno la proprietà d'infettare l'uomo di malaria, quantunque sembri quasi assodato che quel triste privilegio spetti ai primi; però mentre riteniamo tale questione importante, pure nei primi tentativi di profilassi sperimentale erano ben tutte le diverse specie di zanzare, quelle da cui si doveva proteggere l'uomo.

Stabilito tale concetto si è voluto fare un primo tentativo, analogo a quello fatto indipendentemente da noi e contemporaneamente dal Grassi a Maccarese.

Bisognava infatti far pernottare in luoghi di malaria intensa e nella stagione fortemente malarica degli individui, i quali dormissero in ambienti assolutamente aperti all'aria, ma protetti dalle zanzare per vie di sottili reti metalliche.

Tale esperimento non era possibile senza il concorso diretto della Direzione delle Ferrovie Sicule. E infatti sottoposto all'Ispettore Sanitario Capo il piano delle ricerche, esso fu con molto interesse accettato, e subito mi si diede l'onorevole incarico di iniziare lo esperimento che fu condotto nel modo che segue.

Si scelse un luogo fortemente malarico, la stazione di Valsavoja, vicina alla stazione di Catania, a circa un'ora, in

modo da poter continuamente vigilare lo svolgimento della esperienza. In essa stazione ferroviaria, annesso al casamento degli uffici e alloggi, c'è un altro fabbricato addetto come rimessa di macchine, e dove sono pure stanze per alloggio di personale. A due di queste camere della capacità di m. c. 130-150 circa, s'adattarono al posto delle porte e delle finestre, dei telai di rete metallica; essendo le stanze a pian terreno, le porte a telaio aprivano entro l'ampio locale della rimessa che sta sempre aperta, e le finestre, alte circa un metro dal suolo, sporgevano sull'aperta campagna. Le pareti delle stanze vennero imbiancate allo scopo di vedere meglio volare o posare le zanzare su esse o sugli angoli qualora ne fossero penetrate. È inutile dire che i telai a rete delle porte e delle finestre, fatti per cura della Direzione, corrispondevano bene allo scopo, chiudendo ermeticamente, senza lasciar alcuna fessura, in modo da assicurare che nessun insetto, per quanto piccolo, sarebbe potuto entrare.

Gli individui soggetti all'esperimento furono cinque; dei quali quattro erano quelli che pernottavano nelle stanze come sopra, mentre il quinto, che ero io, accompagnava gli altri e rimaneva con loro fino a tarda notte. Essi erano degli individui di buona salute, operai avventizi del Cantiere, dell'età dai 35 ai 45 anni, non avevano mai sofferto malaria, ed erano stati sempre in luoghi salubri.

Partivano dalla stazione di Catania, ove erano addetti ai lavori del Cantiere, ogni giorno alle ore 16,30 circa, per arrivare a Valsavoja dopo un'ora di viaggio verso le 17,30. Appena giunti e discesi dal vagone gli operai con rapida corsa venivano accompagnati alla Rimessa che si raggiungeva in meno di un minuto, e ivi entrati venivano chiusi a chiave fino alla dimane, alle 7,30, al passaggio del treno di mattina. Appena giunto il treno si riaprivano le porte, gl'individui venivano rimessi fuori e, imbarcati subito in vagone, ritornavano verso le 8,30 ai lavori del Cantiere nella stazione di Catania. Tale esperimento doveva durare non meno di un mese.

Prima di far pernottare questi individui a Valsavoja, benchè in essi si fosse già potuto escludere ogni sospetto di malaria

antica o recente come sopra si è detto, pure per maggior cautela si fece colle norme ben note qualche osservazione microscopica per alcuni giorni sul sangue di questi individui; e per quanto riguarda la presenza di parassiti malarici, essa fu sempre negativa.

La stagione, in cui l'esperimento venne condotto, fu quella che per la località è giudicata come la più grave per la malaria; il tempo era ancora molto caldo; in detta epoca per giunta coincisero le prime pioggie, tanto temute nella nostra Piana per lo scoppio della carica malarica, alle quali seguirono le rotture della terra per la semina. L'esperimento venne rigorosamente condotto dal 7 ottobre all'8 novembre, cioè per 33 giorni.

Per chi non lo sa, la stazione di Valsavoja, posta nei pressi immediati di una lunga galleria, è ritenuta come luogo di malaria gravissima, perchè essa giace in un terreno accidentato, posto a valle, e di natura argilloso, comune a tutta la Piana di Catania, anch'essa come è noto, fortemente malarica. A poca distanza da Valsavoja e un po' a valle s'estende in gran superficie il lago di Lentini, detto il Biviere; e nelle vicinanze un gran fiume, come il Simeto, e altri corsi d'acqua minori vi serpeggiano o stagnano intorno. Il terreno circostante è tutto piantato a seminerio; e quindi in autunno, quando la vegetazione manca e la terra è prossima ad essere arata, ha l'aspetto di una vera landa brulla.

Tante volte l'ho dovuta paragonare ad alcuni tratti della campagna romana, poichè alla superficie invero pare che il terreno sia secco ed asciutto, e quando le acque di pioggia scarseggiano, come in estate, è pieno di screpolature. Nelle ore vespertine i vapori che s'innalzano dal lago, dai fiumi circostanti, e che si condensano come rugiada alla superficie del suolo, inumidiscono quella landa apparentemente arida del giorno. Non mancano più o meno lontane, sparse qua e là, delle case coloniche con qualche piccolo ortaggio annesso, e sono frequenti le alte piantagioni di *eucaliptus* all'intorno della Stazione; come non mancano altre folte macchie di vegetazione spontanea, di cespugli, di canneti, ove l'acqua sia

di pioggia, sia di scoli, sia di straripamenti, a causa del terreno accidentato, va a stagnare formando delle sparse gore.

La presenza delle zanzare in questa località è enorme, supera ogni idea. Basta dire che verso il vespero comincia la ridda di questi insetti che viene sempre più a farsi intensa man mano che imbrunisce. A sera poi essi non si rendono più visibili pel buio della campagna, e solo è possibile vederli nei pressi della stazione vicino ai fanali, o entro le stanze di ufficio, ove essi penetrano attirati da qualche lume che ivi si trova. Per dare una pallida idea della grande quantità delle zanzare della località basta dire che esse costituiscono delle fitte nuvolaglie ben difficili a sgombrare e diradare, e avvolgono completamente le persone, alle quali ne è difficile la difesa.

Uno dei mezzi adoperati per proteggersi dalle zanzare nel breve periodo di tempo che passava dalla discesa del treno alla Rimessa delle macchine, era quello di aprire un ombrello e con esso la persona fare delle rotazioni a mulinello attorno a sè, in modo da rompere la fitta nuvola degli insetti e diradarla almeno in parte per andare avanti in quel momento, dappoichè, appena dopo il passaggio della persona, la nuvola dispersa si ricompone. È quindi difficile fare un passo in quelle regioni di sera o di notte senza non uscirne punzecchiato, qualora non si cerchi proteggersi in qualche modo dall'assalto delle zanzare.

Un altro mezzo di difesa, adoperato da alcuni della brigata da esperimento, era quello di ungersi le mani, il volto, le orecchie, tutte le parti scoperte con olio essenziale di trementina; mentre altri della brigata si strofinavano con sapone alla trementina fornitoci dallo Istituto d'Igiene di Roma per cura della Società per gli studî della malaria, residente a Roma. Essendo d'altro canto il locale della rimessa, una trentina, quarantina di metri dalla Stazione, a seconda il punto ove il treno fermava, si poteva esser sicuri che pel breve tratto da dover percorrere a piedi diminuiva la possibilità di esser punzecchiati, tanto più che gli individui ad onta delle sostanze che si ungevano sulle pareti scoperte, cercavano di diradare le zanzare, sventolando avanti il loro viso dei grandi fazzoletti.

L'entrata nelle stanzette della Rimessa si effettuava, aprendo una sola porta ed entrando tutti e cinque gli individui rapidamente, e ciò per evitare che assieme ad essi, durante quel breve tempo in cui la porta rimaneva aperta, potessero penetrare delle zanzare, come una sera avvenne, e nella quale due o tre di esse penetrarono; ma le bianche pareti della stanza le fecero subito scoprire, e in breve si poterono uccidere. Si ebbe però la cura in tutte le altre volte, in cui si entrava, di fare delle grandi ventilazioni avanti la porta, agitando stracci, in modo da fare allontanare tutte quelle zanzare che si trovavano vicino o posate spesso sulle reti o sul telaio. A questo modo non si lamentò più mai durante il corso dell'esperimento l'entrata delle zanzare nelle stanze.

I cinque individui appena entrati, dopo un'accurata rivista ai muri, al tetto, agli angoli delle pareti, per maggior sicurezza accendevano per qualche minuto una polvere zanzaricida fornita dalla Società predetta, a volte ungevansi con trementina, e andavano ad adagiarsi. Durante tutta la notte, pur essendo tutte e quattro le imposte aperte, col vano, ben inteso, protetto dai telai, mai si ebbe a notare l'entrata d'una sola zanzara. Gli operai nelle prime notti dell'esperimento, non essendo ancora arrivate le brande, ove dovevano coricarsi, dormirono sur un poco di paglia; e tale circostanza io non la noto a caso, ma vi faccio molto assegnamento per quanto più tardi riguarda lo stato loro di salute durante il tempo dell'esperienza; come anche è utile accennare che essi non facevano affatto uso di medicinali, come chinino, arsenico, limone, ecc. per preservarsi dalla malaria.

Di tempo in tempo si esaminava qualche goccia di sangue di essi individui, dal punto di vista della ricerca microscopica del parasita malarico; e poi quotidianamente venivano tenuti in osservazione per quei disturbi che avessero potuto presentare.

Durante il tempo che gli operai pernottarono nelle condizioni su espresse vi fu una vera carica malarica; poichè venute le prime pioggie, tanto temute dagli abitatori del luogo, i contadini s'affrettarono a far la rottura della terra per la

semina, e nel personale di dimora a Valsavoja vi coincisero diversi casi di febbri malariche, più o meno gravi.

Il tipo delle zanzare di Valsavoja è diverso, sono parecchie le specie che abbondano.

Da circa 8-10 mesi, mercè l'opera intelligente del dottore Piazza da Lentini, si è proceduto alla raccolta delle zanzare in diversi luoghi ritenuti fortemente malarici; e propriamente in vicinanza al fiume Simeto, al lago di Lentini, alle stazioni di Valsavoja, di Augusta e nei caselli adiacenti, diffusi in zone malariche; e poi di esse zanzare si è potuto stabilire lo studio della classifica delle specie dominanti in quelle località. Questo studio merita ancora di esser meglio approfondito, dopo l'importante lavoro di sistematica del Ficalbi sulle 20 specie di zanzare italiane più comuni. Diremo solo che le specie predominanti non sono costanti in tutte le ore, in tutti i giorni e negli stessi luoghi; bastava infatti allontanarsi un paio di metri da un luogo, dove c'era una nuvola di zanzare con predominio di una specie per trovare poco distante un'altra nuvola con predominio di altre specie. Pare man mano che imbrunisce che le specie fuoriescano a sciame, rimanendo quasi localizzate. Quest'osservazione si poteva fare facilmente percorrendo un dato tratto di cammino; e allora si notava che allo stesso punto e per punti determinati brulicava ad altezza d'uomo una nuvola di zanzare, passata la quale, esse divenivano piuttosto rare e diradate, per imbattersi presto a pochi passi in un altro fitto sciame di questi insetti.

Le specie che durante il tempo dell'esperimento si son potute determinare come quelle dominanti sono il *culex pipiens* e l'*anopheles;* e sono questi stessi due tipi che il Grassi, indipendentemente da me, trovava nella raccolta che per suo conto faceva fare nei pressi di Lentini. È inutile intrattenerci sulla morfologia e descrizione minuta delle zanzare in questione dopo quanto si è detto in precedenza e dopo la guida e le istruzioni che ci hanno fornito i vari e competenti zoologi che di recente si sono occupati della questione (Grassi, Ficalbi); diremo solo che dopo un po' d'abitudine, il *culex pipiens* e l'*anopheles*, possono riconoscersi a vista d'occhio

per i loro caratteri macroscopici e molto meglio del resto anche con una semplice lente d'ingrandimento, avendo gli anofeli malariferi (femmine) un rostro fatto dalla proboscide e dai due palpi di uguale lunghezza alla prima, mentre i culici hanno la sola proboscide lunga e i due palpi molto corti e non visibili ad occhio nudo. Degli altri caratteri, e in specie delle ali è qui superfluo intrattenersi, e pel riguardo si rimanda volentieri agli accennati e competenti autori.

Gli operai durante le trentadue notti che pernottarono nelle stanze predette e che mai furono molestati dalle punture delle zanzare, stettero sempre bene. E benchè, come accennai, nei primi giorni, essi, non avendo la branda ove coricarsi, fossero stati costretti a dormire sul pavimento, e quindi nella possibilità di contrarre anche qualche febbre reumatica, pure conservarono sempre le migliori condizioni di salute.

E qui forse non del tutto fuor di luogo sarebbe accennare alle cause predisponenti alla malaria, messe avanti giudiziosamente dal Celli e studiate con vero intelletto di sociologo nel suo trattato sulla Malaria. Nel caso nostro le cause predisponenti erano favorevoli agli individui per far contrarre loro l'infezione. Lo scarsissimo nutrimento di questi operai avventizi, pieni di numerosa famiglia, rappresentato da pane e deficiente companatico, e spesso da acqua come bevanda, e preso soltanto al mezzogiorno, e forse solo per tutte le 24 ore, e il digiuno quindi prolungato fino al mattino, quando dovevano ritornare a Catania: lo scarso vestiario, il dormire senza coperture e in disagio: il lavoro faticoso ed eccessivo, dovrebbero rappresentare le vere cause di deperimento organico predisponenti alla malaria, eppure per virtù della sola protezione delle reti metalliche, essi non contrassero l'infezione; mentre gli altri impiegati meglio nutriti e meno sottoposti a fatiche disagevoli, dormendo nelle loro abitazioni, ove pullulavano le zanzare, si ammalavano di malaria.

Per giudicare intanto della bontà dell'esperimento accennato era necessario eziandio che gl'individui stessero sotto osservazione per qualche tempo dopo l'ultima pernottazione; e ciò naturalmente per vedere se in qualcuno di loro si sviluppasse

l'infezione malarica ad incubazione tardiva. All'uopo furono tenuti in osservazione per ben quattro mesi, durante i quali si mantennero sempre nelle migliori condizioni di salute; ed ora che già son corsi sei mesi, io che non li ho perduti d'occhio so che sono ben sani e che non hanno avuto alcuna febbre. Il loro sangue ripetutamente osservato non fece mai riscontrare presenza di parassiti malarici. Cosicchè la conclusione di questo primo esperimento vale a dimostrare *che in luoghi e tempi di malaria anche grave, pur dormendo all'aperto, la infezione malarica non si contrae, se si ha cura di proteggersi dalle punture delle zanzare;* e quindi le zanzare e fra esse forse i soli tipi della famiglia degli anofeli sono gli agenti che ospitano ed inoculano all'uomo sano il parassita malarico. Questo risultato collima perfettamente con quello ottenuto dal Grassi in un analogo esperimento fatto nel Casello 35 a Maccarese, quantunque la durata di esso fosse stata molto più breve, cioè di solo 8 notti, tramonto e mattina compresi. In detto Casello, le cui finestre stavano aperte e protette da reti metalliche larghe vi pernottavano 7 persone, fra cui 5 bimbi, e nessuno di essi prese la malaria. Il mio esperimento, durato invece, tramonto e mattina compresi, per ben 33 giorni durante il quale fra 5 individui nessuno prese la malaria, se conferma il favorevole risultato, al quale Grassi è pervenuto, rende scevro di ogni dubbio quello deficiente e poco resistente alla critica ottenuto a Maccarese; e se il nostro risultato vede con un po' di ritardo la luce, è perchè non è mai soverchia la prudenza in simili ricerche se non si vogliono disillusioni e controtempi, e se si vuole che l'esperimento abbia il merito di dirsi condotto con vero rigore scientifico.

Del resto la benemerita Direzione delle Ferrovie Sicule aveva, colla generosità che tanto la distingue, quando si tratta di alleviare le sofferenze del suo personale diffuso nelle zone malariche, permesso di stabilire in grande l'esperimento, cioè provvedendo di reti metalliche tutte le porte e le finestre della stazione di Valsavoja; e il lavoro preparatorio era a buon porto. Ma mentre da un lato un esperimento così fatto

non poteva avere la voluta sicurezza, perchè le condizioni degli operai, degli agenti, degli impiegati che disimpegnano nelle varie ore del giorno e della notte tante svariate mansioni in una stazione importante, quale è quella di Valsavoja, non garentivano il risultato finale che in modo *molto relativo*, dall'altro il tempo necessario richiesto per provvedere di reti tutte le porte e le finestre andava al di là della stagione malarica che si voleva usufruire.

A sua volta intanto anche il Celli nel Lazio, sulle linee Magliana-Pontegalera e Prenestina-Cervara poteva contemporaneamente nella stagione malarica (estate-autunno 1899) preservare le famiglie dei cantonieri delle rispettive Ferrovie, proteggendone le case con reti alle finestre e alle porte, dalla invasione delle zanzare.

Rassegnato così il nostro risultato ci rimaneva a studiare dal punto di vista epidemiologico il tempo per lo sviluppo delle zanzare e le varie specie, le condizioni di temperatura e di pioggia e le cause predisponenti e sociali in rapporto alla più o meno facilità di contrarre l'infezione e in rapporto allo scoppio e diffusione della malaria; ma di ciò sarà oggetto un'ulteriore comunicazione. E intanto mentre aspettiamo fidenti che le ricerche degli studiosi aprano sempre nuovi orizzonti per lo studio di questa infezione che, socialmente parlando, immiserisce il nostro paese, mi sia permesso di ringraziare la spettabile Direzione delle Ferrovie Sicule per aver fatto istituire queste esperienze e l'Ispettore sanitario Capo comm. Fontana che me ne diede la direzione, con piena fiducia e intera libertà di azione, riservandosi per suo conto il controllo dell'andamento delle esperienze e l'ampia discrezione di riferirne alle Autorità preposte.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 9.

Istituto Patologico della R. Università di Padova.
(Prof. Augusto Bonome).

ANNOTAZIONI
SULLA
RIGENERAZIONE DEI MUSCOLI VOLONTARII

Dott. **Vittorio VALLE**
Ass. Onorario.

(Tav. III)

Da lungo corso d'anni, e specialmente in questo ultimo quarto di secolo, è stata portata nel campo scientifico una larga messe di lavori, i quali trattano del modo di rigenerare dei varii tessuti. Ne vennero perciò ad esser stabiliti dei principii fondamentali: per la serie zoologica infatti si ammette che quanto più bassa è la specie dell'animale, tanto più è rigogliosa la rigenerazione delle parti di esso lese o distrutte; giudicando alla stessa stregua i varii tessuti di un organismo elevato, mentre si ritiene che quelli inferiori abbiano una grande attività genetica, questa si va perdendo man mano che si sale per giungere agli organi, ai tessuti più nobili, cui non spetta affatto il potere di rigenerarsi.

Le fibre muscolari striate, per le notevoli modificazioni subite in confronto delli elementi primitivi durante l'evoluzione, occupano un posto, che è intermedio, fra i tessuti più evoluti e quelli ancora indifferenziati; partendo appunto da questo concetto alcuni fra i più vecchi osservatori le ritennero suscettibili di riprodursi, ed altri negarono loro tale proprietà.

Le ricerche accurate sull' argomento della rigenerazione dei muscoli striati cominciarono coi lavori di Peremesko, Weber (2), Colberg ed altri, i quali ritennero che i nuclei del sarcolemma avessero da soli il còmpito di rifare le fibre distrutte. Il Weissmann (1), il Neumann (5), attribuivano tale ufficio alla sostanza contrattile delle fibre rimaste sane. Da ultimo il Wittich, lo Zenker (3), il Waldeyer (4) affermarono che la parte più importante del processo rigenerativo spettava al perimisio interno.

Intorno a queste idee fondamentali si possono raggruppare gli studii che a questi seguirono, e son davvero numerosi.

Tra coloro che ritengono possibile la genesi della nuova sostanza muscolare da elementi eterogenei notiamo l'Erbkam (8), il quale vide le cellule migrate dal sangue diventare di aspetto epitelioide, e fondersi in listerelle, che poi, differenziandosi, acquistavano forma ed aspetto di vere fibre striate. Tale è appunto il concetto a cui si ispirarono il Malowschi (11) ed il Colucci (12); quest'ultimo anzi crede che gli elementi bianchi del sangue, immigrando, rinnovino tutti i tessuti della coda o di un arto asportati nei tritoni.

Il Golgi (9) opina che la rigenerazione non cominci se non è prima cessata l'infiammazione, e ritiene che quella sia dovuta ad elementi connettivali, che si fondono fra di loro; non esclude tuttavia che anche gli elementi muscolari possano aver una certa importanza.

Il Krasche (7), lo Zaborowschi (17), lo Steudel (15), il Bergkammer (13), il Krösing (3), il Motta Coco (5), parlano di cellule muscolari, che si formano dai nuclei del sarcolemma sopravissuti, laddove la sostanza contrattile è degenerata. Questi nuclei, di cui alcuni assumerebbero forma di bastoncino, aumenterebbero il loro sarcoplasma, e fondendosi tra di loro darebbero nuove fibre. Nei primordii le cellule muscolari resterebbero per la maggior parte contenute dal sarcolemma rimasto integro e vuotatosi della sostanza contrattile.

Altri autori, pur ammettendo la formazione di tali cellule

muscolari, ritengono che queste abbiano un'importanza secondaria, e parlano invece di gemme laterali (queste assai rare), e di gemme terminali, le quali ultime sarebbero produzioni continuantisi coll'estremo sano delle vecchie fibre. In sostanza il processo è analogo a quello in precedenza descritto, si tratta cioè di un aumento dei nuclei del protoplasma indifferenziato che li circonda nella vecchia fibra; la differenza sta in ciò, che i nuovi elementi muscolari restano sempre connessi alla fibra da cui derivano. Le gemme così formate dapprima sono omogenee, e poscia si differenziano acquistando forma e funzione di vere fibre striate. Tale idea fu sostenuta dal Perroncito (10), dal Nauwerck (18), dal Barfurth (20). Il Luedeking (6) pensa che le gemme possano rimaner anche indipendenti dalle vecchie fibre, od esser a queste connesse mediante tratti del primitivo sarcolemma squarciato.

Il Nauwerck ammette che non tutti gli elementi neoformati sopravvivano, ma ritiene che una parte di essi cada in necrobiosi. Egli descrive inoltre delle spaccature longitudinali nelle vecchie fibre, che così divise in tante bendelle si continuerebbero colle nuove gemme. Questa idea della divisione nel senso della lunghezza fu sostenuta anche dall'Askanazy (21) e dal Kirby (22); quest'ultimo consente col Luedeking anche nel ritenere che le gemme possano rimaner indipendenti dalla fibra madre.

Il Leven (14), pur associandosi all'idea che la rigenerazione del muscolo spetti alle cellule muscolari, parla anche di placche muscolari. Sarebbero queste delle masse protoplasmatiche, ricche di nuclei, con lieve striatura; dal modo di descrizione sembrerebbe che si trattasse di resti di vecchie fibre in cui i nuclei avessero proliferato.

Ma le ricerche sull'argomento fanno capo specialmente al Volkmann (24), il quale con un poderoso lavoro studiò la rigenerazione del muscolo dopo la congelazione, nella trichinosi, nel tifo, dopo ferite prodotte artificialmente. Egli vide che la formazione di gemme, e la produzione di cellule muscolari possono procedere parallele; questa però è quasi esclusiva

del tifo, in cui il sarcolemma non viene alterato, e dove si ha la completa reintegrazione del muscolo degenerato; la prima invece prevale laddove vi siano perdite di sostanza, le quali a guarigione completa mostrano una cicatrice connettiva, infiltrata da gemme partenti dai bordi della ferita, e che si avanzano per 2 o 3 mm. nel connettivo che ha colmato la perdita di sostanza.

Per ultimo il Morpurgo (26) contando le fibre di un muscolo sano, e quelle del muscolo omologo, a cui era stato esportato un fascetto in tutta la sua lunghezza, vide che in quest'ultimo dopo due mesi le fibre distrutte non si erano riprodotte.

Altra questione si è svolta e dibattuta circa il modo di moltiplicazione dei nuclei muscolari. Alcuni autori ne fanno appena cenno, altri se ne occupano molto diffusamente.

Il Nauwerck, il Robert (19) (questi ha fatto uno studio speciale ed esclusivo per chiarire la questione) sono concordi nel ritenere che si abbia mitosi nei primi periodi, e più tardi divisione diretta; questa in special modo svolgentesi sui nuclei contenuti nelle gemme.

Il Kirby ed insieme a lui il Barfurth credono che l'aumento nucleare avvenga sempre per cariocinesi. Debbo da ultimo ricordare il Zaborowschi, il quale parla di mitosi, di segmentazione diretta e di frammentazione indiretta, forse alludendo con quest'ultima alla classificazione dell'Arnold, che distingue appunto con tale nome quel processo, in cui la cromatina messa in movimento, si ripartisce in modo uguale fra i due nuclei figli.

Desiderando ancor io di farmi un concetto ben chiaro su di un argomento tanto controverso, ho iniziato alcune ricerche in proposito.

Mi son valso di piccole ferite dei ventri muscolari, ed ho adoperato tutte le precauzioni possibili per evitare l'infiammazione e render minima l'emorragia. Dopo raso il pelo della parte interna delle quattro zampe di un coniglio, lavava ac-

curatamente la parte con sublimato corrosivo al 1 °/₀₀, poi con acqua sterilizzata toglieva quelle tracce di antisettico, che penetrando nella ferita, avrebbero potuto comportarsi quali elementi di irritazione locale. Perforata la cute con una sottile lancetta, faceva scorrer quest' ultima fra la cute e le fascie, in modo da portar la lesione in un punto del muscolo che fosse lontano dalla soluzione di continuo delli integumenti. La ferita cutanea veniva poi chiusa spalmandola con celloidina sciolta nell'etere.

Ho studiato la rigenerazione nei muscoli bianchi e dei muscoli rossi del coniglio; per i primi ho scelto costantemente il *vastus medialis* del quadricipite femorale, e l'*anconaeus medialis* del tricipite bracchiale; per i secondi mi sono valso del *tibialis anticus* e del *flexor carpi radialis*. Ho seguito il processo di guarigione a cominciar da 12 ore dal momento della lesione, poscia di 24 in 24 ore per la durata di giorni 20; quindi a distanze maggiori fino a tre mesi. I pezzi di muscolo esportati, divisi in tre porzioni, secondo la direzione delle fibre, vennero sempre fissati in alcool, liquido di Zenker e liquido di Hermann. Per le colorazioni ho usato il carmino alluminoso, l'ematossilina, la fucsina acida e la safranina. Le dilacerazioni mi servirono per veder quelle fibre o quei tratti di esse, che nelle sezioni mal si possono cogliere in tutta la loro estensione. Le inclusioni vennero fatte in paraffina, i tagli in serie.

Il primo fatto che interviene dopo la lesione del muscolo si è il processo infiammatorio, attestato dalla copiosa infiltrazione di leucociti. I fascetti appena recisi si retraggono, lasciando delli spazii, che subito vengono colmati da elementi di infiltrazione; questi in molti casi restano compresi nelle maglie di un reticolo, che si colora bene col metodo di Weigert per la fibrina.

All'infiammazione sono intimamente legate le modificazioni di vitalità e di nutrizione delle fibre muscolari che vanno incontro alle varie fasi regressive.

Anche quando sono ancora intatte, le fibre destinate alla necrosi si riconoscono dalle altre per la perdita della loro striatura, per l'aspetto loro granuloso, e perchè col carmino si colorano diffusamente ed intensamente; ulteriormente però esse si spezzettano, si frammentano, risolvendosi in molti frammenti irregolari, analoghi a quelli che il Metschnikoff (*) ha visto nella involuzione della coda dei girini, e che ha chiamato sarcolisi. Ma accanto a queste modificazioni delle fibre procedono parallele le alterazioni dei loro nuclei; infatti una gran parte di questi mostrano tracce di cariolisi, attestata dalla loro colorazione uniforme, dalla scomparsa dei granuli di cromatina, e dal notevole raggrinzamento che essi subiscono.

Importante è il rapporto che vi ha fra gli elementi migrati del sangue, e la scomparsa della sostanza contrattile.

Nei primi giorni i leucociti si trovano sempre numerosi laddove è più intenso il riassorbimento degli elementi muscolari; sono polinucleati ed a nucleo polimorfo, e la loro presenza nell'interno delle fibre è spesso contraddistinta da una zona chiara, ad essi circostante, in cui la miosina è scomparsa.

Dei detriti di sostanza contrattile veggonsi qua e là inglobati nel protoplasma di tali elementi, che possono esser anche voluminosi. Mi parve tuttavia di notare una certa sproporzione fra la quantità di detriti contenuti nelle cellule semoventi, e la quantità della sostanza che si distrugge.

Nel muscolo striato non ho mai potuto rintracciare quelle cellule giganti, che il Bonome (16) descrive come elementi necrofori, avendole trovate nelle ferite del miocardio in via di riparazione.

Già dopo un giorno dalla lesione alcune fibre sono completamente scomparse, dopo aver subito le varie fasi del processo distruttivo; molte volte al posto di esse non rimane che il solo sarcolemma, nel cui interno vi hanno ancora dei leucociti;

(*) Metschnikoff, « La fagocitosi muscolare » (*Annales de l'Institut Pasteur*, anno 1892, P. I).

quando però è finito il loro còmpito, ancor questi o degenerano o si spostano in altre direzioni.

Ma il modo di distruzione fin qui descritto non è il solo che si possa osservare nelle fibre in seguito all'azione disorganizzatrice del trauma ed in seguito all'infiammazione.

Alcune poche volte ebbi campo di osservare che tali fibre, pur conservando la loro striatura, si scindevano in tanti segmenti abbastanza regolari, trasversalmente disposti, ed ognuno di questi alla sua volta si suddivideva ulteriormente, fino a risolversi quasi nei singoli sarcoelementi; al disgregarsi della fibra faceva riscontro la morte dei nuclei. In questi casi è lecito il pensare ad una dissoluzione della sostanza cementante, tanto più che la invasione da parte delle cellule semoventi si mostra scarsa e tardiva.

Ricordo inoltre come, esaminando delle fibre in sezione trasversa, io abbia potuto qualche volta scorgere i segni di una degenerazione adiposa. Le gocciole di grasso numerose e confluenti in qualche punto sostituivano quasi del tutto la preesistente sostanza contrattile. La natura di tali gocce era messa bene in luce dalle reazioni che esse presentavano; si annerivano infatti se trattate con un soluzione di acido osmico, e col Sudan III assumevano una bella tinta aranciata.

Ed ora una domanda: Fin dove si estende e quanto tempo dura il processo distruttivo? Si capisce come l'una e l'altra cosa siano estremamente variabili in rapporto coll'entità del trauma, coll'intensità dell'infiammazione e dell'emorragia che si manifestano. Circa l'estensione si può dire che la necrosi si estende in media per 3 o 4 mm. al di là dei bordi della ferita. Alcune volte le tracce di dissoluzione dopo 4 giorni son del tutto scomparse; altre volte sono ancora visibili dopo 7-8 giorni, ed anche più in là.

Non tutte le fibre risentono ugualmente le influenze nocive atte a determinarne la morte; talune infatti restano completamente sane, altre degenerano solo per un piccolo tratto; le

une e le altre si riconoscono facilmente perchè conservano la loro striatura, non possono tuttavia per varie ragioni esser considerate come normali. Queste fibre infatti si fanno molto chiare, la loro striatura longitudinale diventa molto manifesta, e parimente quella trasversa, per cui ne risulta una distinzione assai evidente fra i dischi chiari ed i dischi oscuri. Notai ancora in tali fibre una certa tendenza a risolversi nelle fibrille elementari. A questi primi fatti ben tosto si associa l'aumento dei nuclei del sarcolemma, già ben manifesto dopo 12 ore dalla ferita. Che questo si avveri lo si desume facilmente da ciò, che questi nuclei si fanno grossi, vescicolosi, con numerosi granuli di cromatina disseminati nel carioplasma; inoltre si vedono appaiati ed occupanti anche il centro della fibra, laddove normalmente si trovano ad una certa distanza l'uno dall'altro, ed alla periferia, immediatamente sotto al sarcolemma.

Dopo due giorni si scorgono oramai dei piccoli aggruppamenti di nuclei distribuiti in modo irregolare sui monconi delle fibre sane; ma alcuni di essi a questo momento le han già abbandonate. Tali nuclei, dopo essersi circondati di un leggero mantello protaplasmatico, derivante da un aumento di quella sarcoglia, che sempre si trova ai loro poli, si dispongono nell'interno di sottili espansioni, nettamente delimitate, e che sono in connessione diretta colla vecchia fibra. A questo momento molte di queste espansioni sono ancora completamente trasparenti, salvo nei tratti in cui si trovano i nuclei circondati della loro sarcoglia, la quale, sovente, non mostra alcun rapporto di continuità colla sostanza contrattile della fibra a cui la neoformazione è connessa.

È questo l'inizio di quel processo di gemmazione che fu affermato dal Neumann (5) per primo, poscia dal Perroncito (10), dal Nauwerck (18) e da molti altri; ma tutti questi autori parlano solamente di aumento dei nuclei e del loro protoplasma indifferenziato, senza descrivere quel tubulo incoloro e trasparente in cui primitivamente si collocano i nuclei, che hanno proliferato al di fuori della fibra. Sia per i

suoi limiti netti, come per l'aspetto anisto che esso dimostra, si può ritenere che le pareti di questo tubulo siano costituite da una membranella sottile, ed a questa spetta il significato di un sarcolemma, che si differenzia attorno ai nuclei, i quali faranno parte delle nuove cellule muscolari.

Notevole è questo fatto che sembra essere sfuggito a molti osservatori. Forse la mancata osservazione del medesimo si giustifica, quando si pensi che queste propaggini tenui ed incolori, si organizzano nei primi momenti, mentre ancora la presenza di elementi di infiltrazione infiammatoria e di fibre, che si vanno distruggendo, maschera il lavorio sottile della rigenerazione. Io stesso non l'ho potuto osservare che sotto forti ingrandimenti, ed in quei casi in cui era minima la reazione infiammatoria nel muscolo ferito.

Il Motta Coco (25), pur avendo osservata la presenza di un sarcolemma involgente le nuove gemme muscolari, dice che si forma primitivamente, ma senza chiarirne la genesi. Nell'osservare i miei preparati, specialmente a due giorni di distanza dalla produzione della ferita, ho visto spesso dei fibroblasti, derivanti da proliferazione del perimisio interno, il protoplasma dei quali era tutto raccolto ai poli del nucleo e si distendeva in lunghi filamenti rettilinei. Erano appunto questi filamenti quelli, che disponendosi nella direzione della vecchia fibra, si mettevano a ridosso dei nuovi elementi muscolari, e costituivano ad essi quella linea netta di demarcazione, per cui si venivano a costituire le nuove gemme.

È lecito quindi ammettere che esista un sarcolemma prima che la propaggine muscolare sia costituita in tutta la sua lunghezza. Che questo derivi da un differenziamento del protoplasma dei fibroblasti risulta ancora dal fatto, che a ridosso delle gemme perifericamente, si trovano dei nuclei, riconoscibili come connettivali, per la loro piccolezza in confronto di quelli muscolari, e per la colorazione diffusa che essi assumono; questi nuclei più tardi scompaiono del tutto.

Andando per esclusione si può dire che il nuovo sarcolemma non si forma dal vecchio, perchè laddove quest'ultimo si è

vuotato della sostanza contrattile, esso conserva le sue dimensioni, e viene colmato da elementi leucocitarii e da altri che andrò tra poco a descrivere. D'altra parte mal si potrebbe comprendere come un tubo di notevoli dimensioni potesse adattarsi a rivestire delle esili gemme. Messa da parte questa ipotesi, si può anche escludere che il nuovo tubo sarcolemmatico derivi da un differenziamento della parte periferica della sarcoglia che circonda i nuclei muscolari; infatti lo si vede già formato là dove ancora sarcoglia non esiste.

Il sarcoplasma a poco a poco aumenta nell'interno delle gemme, i nuclei muscolari acquistano un abbondante alone protoplasmatico, e questo, adattandosi alla forma del contenente, finisce col riempirlo del tutto di una sostanza omogenea, leggermente granulosa. Dove l'appendice si continua col moncone della vecchia fibra si può dapprincipio scorgere il rapido passaggio dalla sostanza striata a quella amorfa.

Già in questo momento si può vedere che taluna fra queste piccole gemme subisce un processo degenerativo, talchè al posto del loro protoplasma si scorgono molte piccole sferule, toccantisi coi loro contorni. Non credo che si possa dar a questo reperto altro significato, se non quello di una involuzione precoce di quelle neoformazioni, che sono in qualche modo ostacolate nel loro sviluppo.

Dalle osservazioni fin qui fatte risulta facile la conclusione, che la nuova sostanza muscolare non deriva da quella preesistente, ma si formerà a spese di quel sarcoplasma indifferenziato che si è raccolto intorno ai nuclei muscolari, i quali hanno acquistato proprietà di cellule embrionali. Ho meglio potuto convincermi di ciò esaminando dei muscoli in formazione in un embrione umano. Anche in questo caso ho osservato quei tuboli sottili in cui si raccolgono e successivamente proliferano i mioblasti, portati dalla lamella interna dei segmenti mesodermici.

Colto in tal modo l'inizio del processo di gemmazione, riesce facile seguirne le fasi ulteriori. Le gemme infatti, quando siano completamente riempite di protoplasma, cominciano ad

ingrossarsi e ad aumentare in lunghezza. In preparati di tre giorni si vedono già completamente formate, e si insinuano in mezzo ad un connettivo, che per primo ha colmato la perdita di sostanza, e che impartisce alla ferita un aspetto grigiastro. Nelle gemme è grandissimo il numero dei nuclei, ora disposti a guisa di pile di monete, altrove raccolti in cumuli, e strettamente addossati l'uno all'altro. Si capisce quanto grande debba essere l'attività di sviluppo di questi elementi, quando si pensi che su di una sola neoformazione muscolare si possono contare perfino 60 e 70 nuclei, aventi aspetto chiaro, vescicoloso e con numerosi granuli di cromatina.

Ma per qual meccanismo si avvera un tale aumento? Ho cercato lungamente e minutamente se fosse possibile di coglier tracce di mitosi nell'interno delle gemme, e mi son valso per controllo di quello stesso muscolo embrionale, di cui prima ho parlato, e nel quale le cariocinesi sono numerose dentro alle sottili fibre non ancora differenziate. Giammai ho potuto vederne mentre d'altra parte mi fu dato di rinvenire segni indubbî della divisione diretta.

Il primo accenno di questa è dato da una disseminazione uniforme della cromatina nel carioplasma; segue poscia lo strozzamento e la divisione in due parti uguali. Talora si vede un nucleo foggiato a guisa di biscotto, altra volta son due nuclei riuniti da un sottile filamento, oppure situati uno accanto all'altro in modo da sembrar appena divisi.

Questo reperto è convalidato dall'osservazione di molti autori, i quali videro appunto le varie fasi dell'amitosi. Il Robert (19), pur riconoscendo un tale fatto, non vuol dare ad esso alcun valore nel processo rigenerativo, ma io non posso convenire con lui, in quanto che, contemporanea alla divisione del nucleo, si ha una ripartizione quasi esatta della cromatina, che ne è componente essenziale. Mi pare che, quando si raggiunga un tale scopo, sia indifferente l'arrivarci attraverso le fasi complicate della mitosi o per quella via che è la più semplice.

Si noti ancora come sia oggi almeno in parte infirmato il

concetto già invalso che l'amitosi sia relegata ai soli protozoari. Alcuni (Arnold-Paladino) dànno ad essa una certa importanza anche per i mammiferi, ed il Galeotti (1) ha dimostrato che si può trovarla anche negli epitelii dei tritoni.

Debbo a questo punto ricordare come la proliferazione dei nuclei non avvenga sempre ed esclusivamente nella direzione delle gemme; essa si spinge altresì verso l'alto, sulla fibra sana.

Accade talora, che raccogliendosi in cumuli o pile, questi nuclei vengano ad occupare certe aree o spazii longitudinali, derivanti dalla divaricazione delle fibre preesistenti, in vicinanza dell'estremità dei monconi di esse. Tali fibre si presentano così a guisa di bendelle, le quali si continuano con gemme aventi i caratteri già dianzi descritti.

Contemporaneo all'iniziarsi ed allo svolgersi della gemmazione, un altro processo vi ha, che allo stesso modo prende origine da elementi muscolari.

Vedemmo che non tutti i nuclei delle fibre necrosate si distruggono, ma una parte di essi rimane in vita, ed insieme a questi spesso si conserva integro anche il sarcolemma. Da questi nuclei appunto prende origine una rigogliosa produzione di elementi, il cui protoplasma abbondante presenta un aspetto omogeneo, finamente granuloso. I contorni di tali elementi non sono netti, ma come sfumati; tuttavia in molti di essi si può constatare una forma quasi poligonale, mentre altri sono rotondeggianti. I nuclei sono ricchi di cromatina.

Per quanto riguarda il modo di riproduzione di queste cellule muscolari, si può affermare che questa si verifica sempre per cariocinesi; facilmente la si riscontra in tutti i periodi, dallo stadio del gomitolo semplice a quello del dispirema, dal momento in cui le anse cromatiche cominciano a raccogliersi fino alla formazione dei due nuclei figli. (Vedi fig. VI).

(1) Galeotti, *Monitore zoologico*, anno 1895.

Nel primo giorno si vedono già dei tubi di sarcolemma pieni di cellule muscolari, cui i tedeschi dànno il nome di *Muskelzellenschlauche* (tubi di cellule muscolari); in mezzo a questi elementi si possono scorgere anche dei leucociti, i quali andranno ben presto a scomparire.

Il numero dei tubi pieni di cellule proliferate aumenta notevolmente, fino a raggiungere un *maximum* a 4-5 giorni di distanza dalla lesione; da questo momento comincia a diminuire. Infatti l'eccesso del contenuto finisce per vincere l'elasticità del contenente, e questo si lacera; ho potuto convincermi di ciò col vedere, che spesso accanto a delle lacerazioni del sarcolemma si trovavano delli elementi muscolari fuoriusciti ed ancora in via di moltiplicazione.

Ma quale è il destino di queste cellule, quale l'importanza che ad esse spetta nella rigenerazione del muscolo? Evidentemente, sia per il loro numero strabocchevole, come per la scomparsa completa della miosina degenerata, deve arrivar un momento in cui non tutte possono trovare le condizioni necessarie alla loro esistenza. Io credo che il Nauwerch (18) sia nel vero quando afferma che una gran parte di esse vada in distruzione; difatti se tutte si organizzassero si avrebbe un eccesso di riparazione, mentre invece le perdite di sostanza muscolare vengono in gran parte colmate da tessuto connettivo di nuova formazione. Un tale giudizio si impone altresì per i caratteri morfologici di questi elementi, i quali non tardano a dar segni manifesti di cariolisi, con un raggrinzamento notevole, ed una colorazione diffusa del loro nucleo.

Alcune di tali cellule possono tuttavia continuar a vivere, e forse vengono utilizzate nella formazione ed accrescimento delle gemme; difatti in alcuni preparati si può notare che le medesime si allungano, assumendo una forma fusata, e sembra che si adattino al contorno delle appendici, quasi confondendo il loro protoplasma col protoplasma di quelle.

Da quanto ho fin qui detto si può concludere come soltanto ad alcune delle cellule muscolari, ed anzi quasi esclusivamente a quelle che proliferano, estendendosi al di fuori dei monconi

delle fibre sane, debba in realtà attribuirsi una vera importanza istogenetica nella rigenerazione del muscolo.

Molte altre cellule muscolari, e precisamente quelle contenute nei tubi di sarcolemma vuotatisi della sostanza contrattile, quantunque presentino figure mitotiche nei loro nuclei, non raggiungono lo scopo di dar luogo ad alcuna gemma, ma vanno a poco a poco distrutte. Ciò in modo ovvio si spiega quando si pensi che le prime, trovandosi in connessione diretta coll'estremità delle vecchie fibre, possono con facilità nutrirsi come tutto il resto della fibra stessa; invece le cellule contenute entro ai tubi, essendo isolate e mancando di una organizzazione vera, in mezzo ad un tessuto che continuamente si modifica, si trovano in condizioni da dover presto soccombere.

Man mano che la rigenerazione procede, le gemme sottili dei primi giorni assumono proporzioni sempre maggiori; dopo circa una settimana dall'inizio del loro sviluppo la sostanza omogenea contenuta nel loro interno comincia a mostrare un differenziamento, per cui scompare il distacco che primitivamente esisteva fra la sostanza striata e quella amorfa di nuova formazione; quest'ultima infatti alla base delle gemme assume una leggera striatura longitudinale, e questa va digradando fino a scomparire del tutto verso l'estremo libero, in cui l'aspetto omogeneo è indice della continua crescenza, e della formazione di nuovi elementi muscolari.

La produzione dei nuclei continua ancor essa ad esser notevole; questi si raccolgono in cumuli, in lunghe file, e là dove è più abbondante la raccolta di essi, appaiono degl'ingrossamenti, delle nodosità. Il Mingazzini (1) ebbe già ad osservare questo fatto nello sviluppo embrionale del muscolo, e ritiene che questi sieno i punti di accrescimento della giovane fibra; nulla impedisce che si debba ritenere ciò anche

---

(1) Mingazzini, *Arch. per le Scienze mediche*, vol. XVII, n. 5.

per le gemme: difatti in corrispondenza di questi rigonfiamenti, ed intorno ai conglomerati di nuclei si vedono disposti delli ampi aloni protoplasmatici, da cui ulteriormente si differenzierà la nuova sostanza contrattile.

Dopo la striatura longitudinale compare quella trasversa; in 12ª giornata mi parve di coglierne il primo cenno, laddove la gemma si unisce alla vecchia fibra; di là si estende verso l'apice, alla stessa guisa di quella longitudinale. Va notato però che una netta distinzione fra i dischi chiari ed i dischi oscuri non si ha che molto tardivamente, e che non ho mai potuto discernere le strie secondarie descritte dall'Hensen e dall'Amici nelle fibre dei muscoli volontarii.

Ricordo a questo punto che nei preparati fatti dopo 6-7 giorni dalla ferita, ho visto talora il sarcolemma delle fibre sane sollevato da masse protoplasmatiche ricche di nuclei. Evidentemente in questi casi i nuclei della fibra, stimolati a distanza, avevano proliferato, dando luogo a produzioni, che per l'aspetto, se non per la sede, erano completamente affini alle gemme terminali.

Se si deve dar a queste masse il significato di gemme laterali, quali l'Askanazy ed altri con lui le descrivono, riesce giusta l'osservazione di questi autori circa la presenza di tali gemme, e circa il loro numero che è assai esiguo.

Dopo aver prodotto delle ferite io non ho osservato che in casi assai rari la fusione di gemme di un lato con quelle del lato opposto, e ciò solamente quando era piccolissima la distanza che le separava, o quando in una fibra era degenerato solamente un tratto intermedio.

Nel maggior numero dei casi si ha che il vuoto, lasciato dalla retrazione del muscolo, si colma con del tessuto connettivo, il quale è più o meno infiltrato di gemme a seconda delle condizioni che hanno favorito od ostacolato lo sviluppo di queste. Quando sia esigua l'infiammazione, e l'emorragia non sia notevole, si possono vedere dei tratti estesi, colmati

da neoproduzioni muscolari, mentre se invece questi fattori intervengono può esser quasi nulla la produzione di esse.

Volendo trarre delle deduzioni si può dire che il muscolo avrebbe in sè la potenzialità di rigenerare le parti perdute, e ce lo attestano i varii fatti che si svolgono in seno agli elementi muscolari; ma come in esso è lento il lavorìo di riproduzione, altrettanto è rapida la formazione del connettivo, il quale perciò riporta la vittoria, e riesce se non del tutto, in gran parte almeno, a prevalere sulla neoformazione muscolare. Che ciò sia veramente lo dimostra il fatto che nel tifo, p. e., la rigenerazione avviene in modo completo nei muscoli degenerati, appunto perchè non vi ha disorganizzazione del tessuto.

A 40 giorni di distanza dal momento della lesione si possono ancora scorgere i segni della crescenza delle gemme, crescenza che è attestata dall'aspetto omogeneo del loro apice; inoltre esse non sempre appariscono semplici, ma o per produzione di gettoni collaterali, o per formazione simultanea di due o più gemme su di uno stesso peduncolo, possono mostrarsi biforcate ed anche triforcate.

La direzione delle appendici, che nei primi momenti era rettilinea, si fa irregolare; esse si spostano in varii sensi a seconda che la coartazione del connettivo, entro a cui sono comprese, si manifesta in un senso piuttosto che in un altro.

Le neoproduzioni muscolari, anche se adulte lasciano scorgere alcune volte i segni di loro involuzione, dovuta al fatto che forse si trovano in condizioni svantaggiose per il mantenersi della loro vitalità; difatti il tessuto di sostegno, retraendosi, esercita su di esse una compressione, ed i liquidi nutritivi si fanno deficienti per la obliterazione dei vasi compresi nella cicatrice.

Mi sono proposto di vedere come si comportino gli elementi muscolari neoformati quando la cicatrice abbia acquistato i caratteri, che poi conserverà definitivamente, sia cioè raggrinzata e ridotta al suo volume minimo.

Dopo tre mesi essa, colla sua retrazione, ha notevolmente ravvicinati i bordi della ferita, ed è ridotta ad una stria sottile intercalata nel ventre del muscolo.

Le gemme sono fasciate da un connettivo denso, il quale sta in rapporto tanto intimo col loro sarcolemma, che non si può discernere dove cominci l'uno, e dove finisca l'altro. È probabile che la cicatrice funzionando in questo caso come un tendine intermedio, serva di attacco alle neoproduzioni che si partono dai margini della ferita, la potenza delle quali troverebbe la resistenza necessaria appunto nel nuovo tessuto di sostegno che si è organizzato.

Nel muscolo normale, secondo molti autori (Weissmann, Frey, Told, ecc.), l'estremità conica della fibra è completamente fasciata dal suo sarcolemma, l'unione coi fascetti tendinei avverrebbe per mezzo di una sostanza cementante. Altri (Froriep, Wolf), pur ammettendo la netta terminazione delle fibre muscolari verso il tendine, ritengono che il sarcolemma ed il perimisio interno si continuino direttamente col tessuto tendineo.

Nel caso nostro non abbiamo del tessuto di tendine, ma bensì del connettivo che, per la sua compattezza, può funzionar come quello, ed assumere rapporti analoghi coll'estremo libero delle fibre, che si sono novellamente istituite.

CONCLUSIONI.

I. Quando si producano delle ferite nei muscoli, il vuoto, lasciato dalla retrazione dei fascetti recisi, viene in gran parte colmato da un vero e proprio tessuto di cicatrice.

II. Il còmpito precipuo nella rigenerazione delle fibre striate, dopo la produzione di ferite, è affidato alle gemme che si trovano in continuazione diretta colle antiche fibre. Tali gemme prendono indubbiamente origine dalle cellule muscolari, che si sviluppano per moltiplicazione dei nuclei situati verso l'estremità della fibra rimasta sana.

Le propaggini neoformate si insinuano nel connettivo per un' estensione variabile a seconda che la potenza del trauma, l'intensità dell'infiammazione e dell'emorragia hanno favorito od ostacolato il loro sviluppo.

III. Nelle gemme muscolari il sarcolemma si forma primitivamente a spese del protoplasma dei fibroblasti. La sostanza contrattile delle nuove fibre deriva da un differenziamento della sarcoglia che sta attorno ai nuclei proliferati.

IV. Le gemme laterali e le cellule muscolari, che stanno a riempire i tubi del sarcolemma vuotatisi della sostanza contrattile, hanno una importanza del tutto secondaria nella rigenerazione del muscolo.

V. La moltiplicazione dei nuclei nelle gemme muscolari avviene per un processo di divisione diretta, in cui la cromatina si ripartisce esattamente o quasi esattamente fra i due nuclei figli. Le cellule muscolari, entro ai tubi del sarcolemma aumentano sempre per cariocinesi.

VI. La cicatrice coartandosi ravvicina i bordi della ferita, e si presenta come una sottile striscia, che può funzionare a guisa di tendine intermedio nel ventre muscolare.

Padova, 1° maggio 1900.

BIBLIOGRAFIA

1. Weissmann, « Ueber die Verbindung der Muskelfasern mit ihrem Ansatzpunkten » (*Medicine*, III serie, vol. XII, 1861).
2. Weber, « Ueber die Neubildung quergestrefter Muskelfasern, insbesondere die Regeneration-Neubildung derselleu nach Verletzungen » (*Virchow's Arch.*, Bd. XXXIX, 1867, und *Centralbl. f. Medicine*, n. 43, 1863).
3. Zenker, « Die Veränderungen der willkürlichen Muskeln in Tiphus abd. ». Leipzig, 1864.
4. Waldeyer, « Veränderungen der quergestreiften Muskeln bei der Entzündung und beim Tiphus abd. » (*Virch. Arch.*, Bd. XXXIV, 1865).
5. Neumann, *Archiv f. Mikroskopie*, IV, 1868.
6. Luedeking, « Untersuchungen ueber die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern ». Inaug. Diss. Strassburg, 1876.
7. Kraske, « Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der quergestreiften Muskeln », Halle, 1878.
8. Erbkam, « Beiträge zur Kenntniss der Degeneration und Regeneration von quergestreifter Muskulatur nach Questchung » (*Virchow's Arch.*, Bd. 79, 1880).
9. Golgi, « Annotazioni intorno all'istologia dei muscoli volontarii » (*Archivio per le Scienze med.*, 1881).
10. Perroncito, « Contribution à la pathologie du tissu musculaire » (*Arch. ital. de Biologie*, anno 1882, tomo I, fasc. III).
11. Malowski, *Wiener medicinische Wochenschrift*.
12. Colucci, « Intorno alla rigenerazione della coda e degli arti dei tritoni ».
13. Bergkrammer, « Beiträge zur Lehre von der Entzündung und Entartung der quergestreiften Muskelfasern », Strassburg, 1884.
14. Leven, « Experimentelle Untersuchungen ueber die Regeneration der quergestreiften Muskelfasern unter besonderer Berücksichtigung der Kariokinese ». Inaug. Diss., Halle, 1887.
15. Steudel, « Zur Kenntniss der Regeneration der quergestreiften Muskulatur », Tubingen, 1887.
16. Bonome, « Ueber die Heilung der aseptischen Herzwunden » (*Ziegler's Beiträge*, Bd. V, 1889).
17. Zaborowechi, « Experimentelle Untersuchungen ueber die Regeneration der quergestreiften Muskeln » (*Arch. f. experimentelle Pathologie*, Bd. XXV, 1889).

18. Nauwerck, « Ueber Muskelregeneration nach Verletzungen ». Jena, Gustav Fischer, 1890.
19. Robert, « Versuche ueber die Wiederbildung der quergestreiften Muskelfasern » (*Ziegler's Beiträge*, Bd. X, 169).
20. Barfurth, « Zur Regeneration der Gewebe » (*Archiv f. mikroskop. Anatomie*, Bd. XXXVII, 406, 1891).
21. Askanazy, « Zur Regeneration der quergestreiften Muskelfasern » (*Virchow's Arch.*, Bd. 125-520, 1891).
22. Kirby, « Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration des quergestreiften Muskelgewebes » (*Ziegler's Beiträge*, Bd. XI, 302, 1892).
23. Krösing, « Ueber die Rückbildung und Entwickelung der quergestreiften Muskelfasern » (*Archiv für pathologische Anat.*, Bd. 128-445, 1892).
24. Volkmann, « Ueber die Regeneration des quergestreifen Muskelgewebes beim Menschen und Säugethier » (*Ziegler's Beiträge*, Bd. XII, 233-332, 1892).
25. Alfio Motta Coco, « Sulla rigenerazione delle fibre muscolari striate » (*Atti della Accademia Gioenia*, vol. IX, serie IV).
26. Morpurgo, *Anatomische Anzeiger*, Bd. XIV, 1899.

Spiegazione delle Figure.

FIG. I. — (Oc. 8 comp. Ob. imm. $^1/_{12}$ Reichert).

Gemma muscolare di due giorni.

1. Nuclei proliferati sul moncone della vecchia fibra.
2. Tratto di tubulo sarcolemmatico non ancora riempito di protoplasma.
3. Nucleo muscolare della giovine gemma.
4. Filamento terminale.

FIG. II. — (Oc. 4. Ob. imm. $^1/_{12}$ Reichert).

Fibroblasta con protoplasma disposto in due filamenti rettilinei situati ai poli del nucleo.

1. Nucleo raggrinzato.
2. Filamento polare.

FIG. III. — (Oc. 8 comp. Ob. imm. $^1/_{12}$ Reichert).

Gemma muscolare e cellule muscolari che sembrano in via di fondersi colla gemma stessa.

1. Punto in cui le cellule muscolari hanno preso contatto colla gemma.

2. Gemma muscolare neoformata.
3. Nucleo della gemma in cui la diffusione della cromatina e lo strozzamento intermedio indica lo svolgersi della divisione diretta.
4. Nucleo di una cellula muscolare.

Fig. IV. — (Oc. 4. Ob. imm. $^1/_{12}$ Reichert).

Gemma di 2 giorni in via di involuzione.

1. Sferule contenute nell'interno del tubo sarcolemmatico e che stanno al posto del protoplasma.
2. Nucleo vacuolizzato.
3. Nucleo connettivale raggrinzato e in preda a cariolisi.

Fig. V. — (Oc. 3. Ob. 5 Reichert).

Gemma adulta di 9 giorni, biforcata.

1. Tratto della vecchia fibra che è rimasto sano.
2. Cumulo di nuclei in uno dei punti nodali o di accrescimento di una gemma.
3. Nucleo in via di moltiplicazione amitetica.

Fig. VI. — (Oc. 4. Ob. 7. Reichert).

Tubo di sarcolemma, pieno di cellule muscolari, sezionato trasversalmente.

1. Cellula muscolare.
2. Leucocita.
3. Cellula muscolare in cui si scorge una piastra equatoriale vista da uno dei poli del nucleo; il sarcolemma in questo punto è squarciato.
4. Sarcolemma integro.
5. Connettivo che circonda il tubo del sarcolemma.
6. Granuli di miosina disorganizzata.

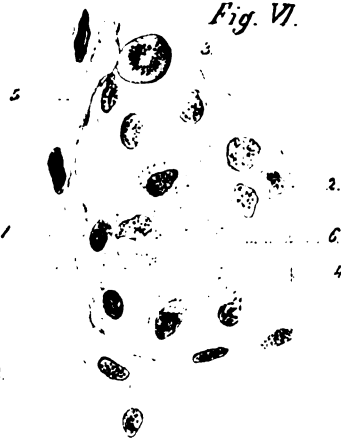












Dott. Migliorini dis.

Stab. Prosperini

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 10.

Clinica Psichiatrica della R. Università di Cagliari.

SULLE CELLULE NERVOSE

CON PROLUNGAMENTI PROTOPLASMATICI A RAMIFICAZIONE DISTALE

PEL

Prof. **Luigi RONCORONI**

Direttore.

L'attenzione dei nevrologi nello studio del sistema nervoso centrale si è fissata piuttosto sul prolungamento nervoso che non sui prolungamenti protoplasmatici.

Vennero distinte le cellule nervose in unipolari, bipolari e multipolari.

Le unipolari (cellule amacrine, cellule unipolari del mesencefalo, alcune cellule d'animali inferiori, come salamandre, lombrici, crostacei, ecc.) sembrano sprovviste di prolungamenti protoplosmatici (cellulipeti) e fornite solo di un prolungamento cellulifugo. Nelle cellule amacrine questo prolungamento si ramifica e termina nello spessore dello strato molecolare della retina. Invece le celluli unipolari del mesencefalo dànno origine ad un prolungamento che si mantiene indiviso, come Golgi dimostrò (1)..

Le cellule bipolari si riscontrano negli elementi nervosi sensitivi periferici, le quali in apparenza sono unipolari (salvo quelle in rapporto col nervo acustico ed olfattivo) ma, come

(1) Golgi, « Sur l'origine du quatrième nerf cérébral et sur un point d'histophysiologie générale qui se rattache à cette question » (*Arch. italiennes de biologie*, 1893).

l'embriologia dimostra, in origine sono bipolari, e tali si conservano in alcuni pesci. Esse si trasformano, durante lo sviluppo, in cellule unipolari, nelle quali l'unico prolungamento dopo un breve tratto, si ramifica in due: uno periferico, che diventa il cilindrasse d'una fibra periferica, l'altro centrale, che diventa il cilindrasse di una fibra nervosa delle radici posteriori e che, giunto nella parte esterna del cordone posteriore del midollo, si biforca in un ramo ascendente ed un ramo discendente.

Come è noto i nevrologi sostenitori del concetto del neurone trovano qui una facile obbiezione alla legge per la quale i prolungamenti protoplasmatici sono cellulipeti e i nervosi cellulifugi. Infatti nel ramo periferico dei prolungamenti delle cellule dei gangli spinali la conduzione nervosa si fa in senso cellulipeto e non cellulifugo, malgrado che i caratteri della fibra siano esclusivamente quelli d'un cilindrasse. Il Van Gehuchten (1) spiega questo fatto dicendo che ogni distinzione morfologica tra un prolungamento cilindrassile e un prolungamento protoplasmatico scompare, perchè un prolungamento protoplasmatico eccessivamente lungo può prendere tutti i caratteri d'un prolungamento cilindrassile e diventare, come quest'ultimo, cilindrasse d'una fibra nervosa. Ma sta il fatto che i due tipi di prolungamenti sono, morfologicamente, assolutamente distinti. Non ripeto qui i caratteri differenziali, già noti: solo avverto che col metodo al cloruro di platino, che pubblicai nel 1896 (2) e che ricorderò più innanzi, la differenza tra i due tipi di prolungamenti appaiono anche più distinti che col metodo Golgi e non vi può esser dubbio alcuno che si tratti di elementi chimicamente differenti; infatti essi assumono un tono di colorazione brunastro, e sono più debolmente colorati che non i cilindrassi, mentre questi hanno una spiccata colorazione bleu. Inoltre, mentre per ottenere buoni risultati nella

(1) Van Gehuchten, « Anatomie du système nerveux de l'homme », 3ᵉ édit., Louvain, 1900, 1° vol., pag. 263.

(2) Roncoroni, « Colorazione dei prolungamenti protoplasmatici, ecc. » (*Arch. per le scienze med.*, Torino, 1896).

colorazione dei prolungamenti protoplasmatici più fini, bisogna che i pezzi siano tolti dal cadavere appena ucciso l'animale, e senza che essi subiscano il minimo maltrattamento, invece per la dimostrazione dei cilindrassi e delle fibre amieliniche si ottengono buoni risultati anche fissando i pezzi 24 ore dopo la morte, e anche se i pezzi siano stati estratti dal cadavere con minor riguardo; il che dimostra che, per caratteri chimici e forse anche fisici, le due specie di prolungamenti sono differentissimi tra loro. Diverso deve essere quindi l'ufficio loro; questa differenza non può consistere soltanto nel senso della conduzione nervosa, dal momento che questa in qualche caso si dimostra tanto cellulipeta come cellulifuga, come vedremo più innanzi.

Le cellule multipolari formano l'immensa maggioranza degli elementi che entrano nella costituzione dell'asse cerebro spinale. Ma di esse fu studiato specialmente il cilindrasse, come quello che è in relazione diretta con una fibra nervosa. Golgi distinse appunto le cellule nervose in due tipi, a seconda che il loro cilindrasse è lungo, oppure breve; quest'ultimo, ad una piccola distanza dal corpo cellulare, si divide e suddivide più volte in modo da formare come una rete; per Golgi le cellule nervose con prolungamento cilindrassile lungo sono motrici, le altre sono sensitive; distinzione funzionale che non è accettata da Ramon y Cayal, il quale considera le cellule con cilindrasse corto, abbondantemente ramificato, come cellule d'associazione; Schafer le denomina cellule intermediarie e Lenhossek dendraxoni.

Così il criterio per determinare le cellule di associazione sarebbe fondato esclusivamente sulla costituzione morfologica del cilindrasse, senza tener alcun conto del prolungamento protoplasmastico, cosa che a noi sembra, come vedremo più innanzi, erronea.

A noi sembra, come dimostreremo, che il prolungamento protoplasmatico abbia una importanza non minore del nervoso nello studio delle cellule nervose, e nella determinazione dei suoi rapporti e quindi della sua funzione. È vero che esistono

cellule nervose, le unipolari, in cui i prolungamenti protoplasmatici mancano, ma in questi casi le loro funzioni sono assunte dal corpo cellulare. Nell'ontogenesi e nella filogenesi, quanto più la cellula nervosa acquista in complessità di rapporti, tanto più i prolungamenti protoplasmatici si fanno numerosi e ramificati. Essi, come osserva Van Gehuchten, sono come una espansione del corpo cellulare, che ha per iscopo di ingrandirne la superficie per facilitare e moltiplicare i contatti cogli altri neuroni; essi hanno quindi la massima importanza nello studio dei rapporti delle cellule nervose. Di qui la necessità di studiarli in modo particolareggiato, come ci proponiamo di fare in questo lavoro.

La causa per la quale lo studio del sistema nervoso si è fermato sopratutto all'esame del prolungamento nervoso, del corpo cellulare, e del tratto più grossolano dei prolungamenti protoplasmatici, quello più vicino alla cellula, e dove spesso esistono granulazioni cromatiche (prolungamenti cromatici), consiste, almeno in gran parte, nel fatto che la tecnica microscopica del sistema nervoso, non ci offriva, fino a qualche anno fa, nessun metodo all'infuori del metodo Golgi, e delle sue modificazioni, il quale mettesse in evidenza le più fini ramificazioni dei prolungamenti protoplasmatici. E col metodo Golgi, che dà pure reperti così meravigliosi, la reazione è, come è noto, tutt'altro che sicura.

I metodi Weigert e Pal e derivati non colorano che le fibre a mielina. I metodi al carmino, carmino borace, carmino allume, carmino alla litina, all'ematossilina, colorano i nuclei, il protoplasma cellulare, qualcuno di essi il cilindrasse, ma non le fini ramificazioni protoplasmatiche. Lo stesso si deve dire per la colorazione colle aniline, e particolarmente pel metodo Nissl. Il metodo Erlich colora i cilindrassi e le loro terminazioni. I metodi all'acido osmico colorano le fibre mieliniche. I metodi al cloruro d'oro (Freud, Upson), alla cocciniglia (Czokor), alla nigrosina, e i metodi di Wolters e di Mallory colorano i cilindrassi. Il metodo di Van Gieson colora bene i nuclei, i cilindrassi, e il tessuto sclerosato, ma

non i fini prolungamenti protoplasmatici. Altri metodi servono per la colorazione della nevroglia (Malassez, Weigert, Kulschitzki), ma non per i prolungamenti protoplasmatici.

Era quindi utilissimo, anzi necessario un metodo che colorasse le fini ramificazioni protoplasmatiche. Ho pubblicato questo metodo nel 1896 (1) ed ora lo riproduco qui introducendovi quelle modificazioni che l'esperienza mi ha consigliato.

Piccoli pezzi di tessuto nervoso della grossezza di $^3/_4$ di cm. si immergono in una miscela di queste due soluzioni, a parti uguali:

1ª Bicromato di potassa	gr.	5
Solfato di sodio	»	2
Acqua distillata	»	100

Si filtri.

(È il liquido del Müller, nel quale però i componenti sono in proporzione doppia: si può quindi considerare come un Müller doppio).

2ª Bicloruro di platino	gr.	1
Acqua distillata	»	125

Al momento di servirsene si fa la mescolanza a parti uguali delle due soluzioni. Per tre o quattro pezzetti di sistema nervoso dello spessore sopradetto bastano 60 cm. c. della miscela.

Risultati analoghi si ottengono adoperando, invece del liquido del Müller il bicromato di potassio o l'acido cromico.

I pezzetti di sistema nervoso devono essere tolti da un animale appena morto. Dopo 10 ore dalla morte, sopratutto in estate, non si è più sicuri di ottenere buoni risultati. Una avvertenza della massima importanza si è quella di non maltrattare menomamente i pezzi nell'estrarli dal cadavere. Le minute ramificazioni dei prolungamenti protoplasmatici che sono estremamente delicate, si alterano rapidamente e quindi non si colorano più, se il pezzo ha subìto pressioni o stiramenti, mentre i cilindrassi sono assai più resistenti ai maltrattamenti.

(1) Op. cit.

Non è necessario rinnovare molte volte il liquido; basta rinnovarlo 24 ore dopo la prima immersione nella miscela.

L'azione del bicloruro di platino, oltre quella specifica sul protoplasma, consiste nell'accelerare l'azione del liquido del Müller, così che il rapido indurimento del pezzo permetta di fissare i caratteri istologici prima che, per l'azione del tempo, si alterino. Infatti il cloruro di platino e i sali di cromo adoperati isolatamente non fissano, nè i fini prolungamenti protoplasmatici, nè il cilindrasse.

Al terzo giorno si può già togliere un pezzetto e fare i soliti passaggi in alcool e in celloidina. Così nei giorni successivi; un'immersione prolungata al di là di 10 giorni spesso non è necessaria, e alle volte nociva.

I pezzi, tolti dalla miscela, non devono essere passati in acqua, ma direttamente in alcool, prima rettificato, poi assoluto, quindi sono inclusi in celloidina.

Per i pezzi a larghe dimensioni, dopo che son giunti nella soluzione più densa di celloidina e vi sono rimasti almeno 24 ore, è utile far una successiva inclusione in paraffina, che io pratico in questo modo: si tolgono i pezzi dalla celloidina e si mettono in cloroformio per 24 ore; poi in una soluzione di paraffina in cloroformio a 35° per altre 24 ore; finalmente si includono in paraffina nella stufetta. A questo modo si posson ottenere sezioni abbastanza sottili anche di pezzi a larghe dimensioni.

Le sezioni devono essere molto sottili (5-10 μ), perchè con esse soltanto si ottengono buone immagini.

Le sezioni si possono poi colorare in due modi differenti: Uno è più lento, ma mette meglio in evidenza i prolungamenti protoplasmatici; l'altro più breve e serve specialmente per la colorazione dei cilindrassi.

1° Colorazione coll'ematossilina Pes: Si fa una soluzione concentrata a caldo di allume; si lascia raffreddare; a 150 cmc. di questa soluzione satura filtrata si aggiungono 5 goccie di una soluzione di carbonato di litina all'1 % e 1 gr. di ematossilina cristallizzata sciolta in 10 di alcool assoluto. Si lascia per 20 giorni la boccetta scoperta, poi si può usare filtrando il liquido volta per volta.

Si lasciano le sezioni in questa soluzione per 20-30 ore, poi si decolorano col metodo **Pal** così modificato:

Si lavano per qualche minuto in acqua distillata.

Si passano in una soluzione al 0,10 % in acqua distillata di Permanganato di K, finchè la sostanza bianca si differenzia dalla grigia.

Si passano per 2'' in una soluzione di 0,2 d'acido ossalico e 0,2 di solfito potassico in 100 di H_2O.

Si passano le sezioni per qualche minuto in soluzione di carbonato di litina all'1 %.

Poi si lavano in acqua, si disidratano, si rischiarano con xilolo e s'includono in balsamo del Canadà.

Con questo metodo oltre a colorarsi i cilindrassi (in bleu intenso) i nuclei della nevroglia e delle cellule nervose, si ha un modo di comportarsi speciale di alcuni gruppi cellulari nervosi, in confronto a certi altri: alcuni si colorano *in toto*, insieme ai prolungamenti protoplasmatici, fin nelle più minute ramificazioni, con un tono di colorazione caffè; altri non si colorano *in toto* ma in essi appaiono colorati il nucleo e il nucleolo, e nel protoplasma della cellula una quantità di minute granulazioni.

Questi due gruppi cellulari non corrispondono che in parte alla distinzione del **Nissl** in cellule somatocrome e cellule cariocrome, in quanto che molte cellule colorate solo parzialmente col metodo qui descritto, appartengono al tipo somatocromo col metodo **Nissl**.

Per alcune particolarità che si riscontrano con questo metodo rimando al mio lavoro sopracitato, dovè in una tavola ho riprodotto l'aspetto di queste due differenti specie di cellule.

2° Colorazione coll'ematossilina **Mallory**. Si lascia per alcune settimane alla luce solare e poi si filtra la seguente soluzione:

Acido fosfo-molibdenico 10 %	part.	10 —
Ematossilina	»	1,75
Acqua distillata	»	200 —
Acido fenico cristallizzato	»	5 —

Si lasciano le sezioni in questo liquido da qualche minuto a qualche ora, poi si decolorano come nel metodo precedente, salvochè le sezioni, tolte dalla soluzione di acido ossalico e solfito potassico, invece di metterle in una soluzione di carbonato di litina all'1 °/₀, si passano in una soluzione di acido fosfo-molibdenico all'1 °/₀.

Con questa colorazione assai più rapida della precedente, si hanno all'incirca gli stessi risultati, salvochè i cilindrassi sono colorati più intensamente e i prolungamenti protoplasmatici meno distintamente.

Facendo astrazione per ora di altri fatti importanti che si mettono in evidenza con questo metodo di fissazione e di colorazione del sistema nervoso, ferma l'attenzione sul fatto già accennato che con esso alcune cellule nervose si colorano *in toto* coi loro prolungamenti protoplasmatici, fino alle più minute ramificazioni, invece in altre si colorano solo il nucleo e il nucleolo, mentre del protoplasma si vedono soltanto minute granulazioni.

Noto subito che vi sono alcune specie di cellule che si colorano sempre *in toto*, mentre altre sempre solo parzialmente. Così, p. es., le cellule di Purkinje e le cellule mitrali del bulbo olfattivo appartengono al primo gruppo, le cellule dei gangli spinali e le cellule unipolari del mesencefalo appartengono al secondo gruppo.

Esamineremo sotto questo rapporto il modo di comportarsi delle cellule nervose nei vari segmenti del sistema nervoso; i risultati che qui espongo sono il frutto d'uno studio che proseguo da più di 5 anni, costituito dall'esame di 50 casi tra uomini ed animali (cani, conigli, cavie, polli), in gran parte dei quali ho studiato i vari segmenti del sistema cerebro-spinale.

Determinando con precisione il modo di comportarsi dei varii gruppi cellulari nei diversi punti del sistema nervoso, potremo stabilire la causa del diverso loro modo di reagire all'indurimento e alla colorazione; potremo quindi conoscerne il significato ed affermarne l'importanza negli studi istologici

e forse nella determinazione delle funzioni. Per mettermi in condizione di poter far confronti tra i varii segmenti esaminati, ho scelto per questo lavoro soltanto pezzi tenuti per sei giorni nel fissativo.

Gangli dei nervi spinali e craniani. — Tutte indistintamente le cellule dei gangli spinali, sia quelle della varietà grande, come quelle della varietà piccola, si colorano solo parzialmente con questo metodo, a differenza di quello che avviene col metodo Nissl, o col metodo di Kronthal, coi quali le cellule grandi sono generalmente chiare, e le piccole oscure. Il nucleo appare distintamente colorato e ancora più spiccatamente il nucleolo; il protoplasma attorno appare giallognolo, e presenta, specialmente nei casi di demenza cronica, quasi sempre per lo più verso un polo, un ammasso di pigmento, di forma e di dimensioni svariatissime. Osservate a forte ingrandimento e sopratutto coll'immersione nel protoplasma appaiono evidentissime granulazioni debolmente colorate.

Osservo qui incidentemente che il pigmento si riscontra anche negli animali giovani uccisi; non si può quindi dire che esso sia patognomonico delle forme con demenza. Però va aumentando coll'età e lo si riscontra più abbondante nelle forme croniche di pazzia.

Oltre a ciò le granulazioni di pigmento che si riscontrano nelle forme croniche di malattie mentali e non raramente nella vecchiaia, sono assai più grosse che non normalmente. Esse sono molto più voluminose e si colorano molto più intensamente delle altre granulazioni protoplasmatiche.

Noto che le cellule dei gangli spinali mancano di prolungamenti protoplasmatici; l'unico prolungamento che ne esce si suddivide in due branche, una periferica (cellulipeta), l'altra centrale (cellulifuga): ma entrambe sono generalmente rivestite di mielina, ed hanno tutti i caratteri del cilindrasse.

Gangli simpatici. — Ho esaminato il ganglio cervicale superiore e il celiaco. Le cellule nervose appartengono nei gangli simpatici ai due tipi: quello che si colora solo parzialmente e quello che si colora *in toto*. Queste ultime sono

in prevalenza sulle prime. In una sezione trasversale di gangli simpatici le due specie di cellule non appaiono sempre uniformemente mescolate, ma le cellule colorate *in toto* in qualche caso sono prevalentemente accumulate in una parte della sezione pur essendo uguale lo spessore di essa in tutta la sua estensione. I prolungamenti protoplasmatici però non appaiono colorati, o soltanto debolmente. Ricordo qui come le cellule del simpatico appartengano al tipo multipolare; i prolungamenti protoplosmatici terminano nella vicinanza delle cellule d'origine. Mentre nei gangli spinali la grande maggioranza delle fibre (astrazione fatta di quelle provenienti da rami comunicanti), appartiene a un solo tipo, fibre sensitive provenienti dalla periferia e recantisi ai cordoni posteriori del midollo, dopo essersi messe in comunicazione colle cellule dei gangli spinali stessi, invece nel ganglio simpatico le fibre appartengono a sistemi differenti: fibre commissurali longitudinali che legano l'uno all'altro i gangli sovrapposti e che rappresentano i cilindrassi di cellule del ganglio stesso, o dei gangli vicini; fibre che penetrano nel ramo comunicante; fibre che si dirigono alla periferia per la via del nervo simpatico periferico; fibre che provengono dal sistema cerebro spinale e per mezzo dei rami comunicanti si portano al ganglio; fibre che dalla periferia per mezzo del nervo simpatico periferico si recano al ganglio per fermarvisi, o solo per attraversarlo e portarsi, a traverso i rami comunicanti, nel sistema nervoso centrale. Se si tien poi conto delle collaterali che queste fibre abbandonano e che vanno a mettersi in rapporto colle cellule dei gangli si comprende come i rapporti delle cellule colle fibre siano notevolmente più complicati nel ganglio simpatico che non nel ganglio spinale e che la cellula per stabilire questi rapporti abbia bisogno di mezzi speciali che mancano alle cellule sensitive dei gangli spinali. Questi mezzi sono i prolungamenti protoplasmatici.

Midollo spinale. — Tanto nei corni anteriori che nei posteriori, come nelle colonne di Clarke si riscontrano i due tipi di cellule; le cellule solo parzialmente colorate sono però in pre-

valenza; le cellule colorate *in toto* si trovano molto più abbondanti nei corni anteriori; esse son situate per lo più alla periferia del corno; ma alle volte si trovano gruppi di cellule colorate *in toto* anche al centro e alla base del corno. Anche nel midollo spinale le parti dei prolungamenti protoplasmatici più vicine alle cellule sono alle volte colorate *in toto*, altre volte, ma più raramente, scolorate; ma le minute ramificazioni dei prolungamenti protoplasmatici, anche delle cellule colorate in *toto*, non appaiono mai colorate.

I rapporti delle cellule nervose del midollo spinale colle fibre sono infinitamente meno complessi di quelli che si notano nella corteccia cerebrale o cerebellare; tuttavia son già molto più complicati che non nei gangli spinali; infatti astrazione fatta delle vie lunghe alle quali esse dànno origine, esse sono in rapporto colle fibre terminali e collaterali della branca centrale del prolungamento dei gangli spinali, colle fibre dei fasci piramidali, colle vie brevi longitudinali che provengono da segmenti superiori e inferiori del midollo stesso, e colle fibre commissurali trasversali. Il metodo Golgi dimostra inoltre che i prolungamenti protoplasmatici terminano o tra gli elementi cellulari della sostanza grigia, o tra le fibre nervose della sostanza bianca, e che quindi essi possono essere più o meno sviluppati. Per rispetto al prolungamento nervoso le cellule appartengono al tipo con cilindrasse breve o con cilindrasse lungo.

Midollo allungato. — Le cellule delle olive sono quasi completamente colorate *in toto.* Nei nuclei di Goll e di Burdach si trovano i due tipi cellulari, con prevalenza però delle cellule colorate solo parzialmente. Nei nuclei motori del XII-XI-X-IX sono in grande prevalenza le cellule colorate *in toto*. Nelle cellule del nucleo del fascio solitario prevale di molto il tipo con colorazione parziale. Nella sostanza reticolare sono sparse cellule dell'uno e dell'altro tipo, ma sopratutto di quelle a colorazione parziale. Il resto del corno anteriore contiene cellule dell' uno e dell' altro tipo, con prevalenza però delle cellule colorate parzialmente. Ricordo che nell'oliva bulbare le cel-

lule nervose sono piuttosto voluminose e fornite di numerosi e cospicui prolungamenti protoplasmatici molto ramificati.

Ponte di Varolio. — Nei nuclei del sesto e del settimo si trovano entrambi i tipi cellulari; ma sono in prevalenza le cellule colorate *in toto*, in molte delle quali si colorano non solo le ramificazioni più grosse dei prolungamenti protoplasmatici, ma anche le medie; non però le più minute. Nei « nuclei del ponte » e nei nuclei dell'VIII si trovano pure i due tipi cellulari; i prolungamenti protoplasmatici non appaiono però così evidenti come nelle cellule del nucleo sopradetto. Sopratutto in sezione longitudinale si riconosce che tra i nuclei del ponte, mentre il maggior numero è formato quasi solo di cellule colorate *in toto*, una parte minore è formata esclusivamente di gruppi di cellule colorate solo parzialmente. Le cellule vescicolari del nucleo accessorio del trigemino che Golgi considera come appartenenti al IV paio (1) sono tutte colorate solo parzialmente.

Cervelletto. — Nei nuclei dentati e nel nucleo del tetto si riscontrano entrambi i tipi cellulari.

Strato granulare. — Tutti i granuli appartengono al tipo delle cellule colorate solo parzialmente. Le grandi cellule dello strato granulare sono colorate in toto. Come è noto queste cellule descritte per la prima volta da Golgi hanno numerosi prolungamenti protoplasmatici che si dividono e suddividono parecchie volte.

Cellule di Purkinje. — Esse si colorano completamente *in toto* (salvo che nell'allestimento del preparato siano sottoposte ad una decolorazione eccessiva) non soltanto nel corpo cellulare e nei grossi prolungamenti protoplasmatici che ne escono, ma fino alle più minute ramificazioni che si vedono raggiungere la superficie dello strato molecolare a contatto coi vasi sanguigni della pia madre. Tutte senza eccezione le cellule di Purkinje si colorano *in toto* a questo modo: soltanto se la sezione è disuguale si possono vedere nei punti

(1) Golgi, Op. cit.

sottili cellule colorate solo parzialmente; ma in questi casi l'eccezione è dovuta soltanto ad un eccesso di decolorazione. Più innanzi discuterò questo argomento. Il tono di colorazione che assumono i prolungamenti protoplasmatici fin nelle più minute ramificazioni è brunastro; le più fini diramazioni appaiono formate da tanti granuli, o brevi lineette disposte in serie che si intrecciano tra loro; le minute diramazioni di uno stesso prolungamento sono parallele tra loro, mentre si intrecciano (senza anastomosarsi) le serie provenienti da prolungamenti diversi (1). Le spine collaterali trovate col metodo Golgi e descritte da Ramon y Cayal e confermate da Van Gehuchten e Retius non appaiono punto, con questo metodo, nelle fini ramificazioni dei prolungamenti protoplasmatici delle cellule di Purkinje, come del resto di nessuna cellula nervosa e non sono probabilmente che precipitazioni che si formano in corrispondenza dei granuli. La disposizione dei prolungamenti protoplasmatici ha qualche diversa particolarità a seconda della specie animale, ma per questo rimando al lavoro precedentemente citato.

Strato molecolare. — Le cellule dello strato molecolare si colorano costantemente soltanto parzialmente; solo il nucleo appare intensamente colorato nella sua totalità, tanto che il nucleolo non si distingue; direttamente dal nucleo si vedono alle volte uscire finissimi tratti colorati in bruno.

Peduncolo cerebrale. — Nelle eminenze quadrigemelle, nei nuclei del III e del IV paio, nel grigio centrale, nel nucleo rosso e nella sostanza nera di Swemmering trovansi i due tipi cellulari. Le più minute ramificazioni dei prolungamenti protoplasmatici non sono però mai evidenti.

Gangli subcorticali. — Anche qui trovansi diffusamente i due tipi cellulari, ma le minute ramificazioni non appaiono mai colorate. Il tipo cellulare colorato solo parzialmente è in prevalenza.

Corteccia cerebrale. — Anche nella corteccia cerebrale si

---

(1) Vedi le figure nel lavoro precedentemente citato.

riscontrano i due tipi cellulari; ma le cellule colorate *in toto* presentano colorate anche le più fini ramificazioni dei prolungamenti protoplasmatici, che si dividono e si ramificano nello strato molecolare; sembra che in alcune zone prevalgano decisamente le cellule colorate *in toto* e in altre quelle colorate solo parzialmente; ma intorno a questo argomento rimando ad un altro lavoro, nel quale esamino appunto il modo di comportarsi dei due tipi cellulari nelle varie parti della corteccia cerebrale. Le cellule colorate *in toto* appartengono generalmente alle piramidali, tanto grandi che piccole. Le cellule del Cajal si colorano sempre solo parzialmente. Cellule colorate *in toto* si riscontrano pure negli strati granulari interni ed esterni, e nel polimorfo. Nella corteccia cerebrale però l'intreccio della ramificazione dei fini prolungamenti protoplasmatici riesce assai meno facile ad ottenersi che non nella corteccia cerebellare, ed ho potuto convincermi che la corteccia cerebrale risente i minimi maltrattamenti molto più delicatamente che non la cerebellare, così che facilmente invece di vedere i fini prolungamenti protoplasmatici intensamente colorati e nettamente deliminati, appaiono colorati pallidamente e con minor evidenza distinti. Nelle cellule colorate solo parzialmente si riscontrano spesso masse di pigmento più o meno abbondante.

Corno d'Ammone. — Le cellule piramidali si colorano *in toto*, fino alle minute ramificazioni, ma sembra anche qui, come per il cervello (per la facile loro alterabilità) difficilissimo ottenerne una colorazione viva e completa. Le cellule di Cajal, le stellate, le cellule degli strati lacunari, radiati ed oriens, si colorano solo parzialmente. Come è noto, per gli studi di Golgi le cellule piramidali possiedono abbondanti dendriti discendenti, o basilari ed ascendenti; quest'ultimi sviluppatissimi traversano lo strato delle cellule piramidali e si ramificano nello strato molecolare assumendo una lunghezza considerevolissima.

Bulbo olfattivo. — Tutte le cellule mitrali e le cellule fusiformi dello strato molecolare si colorano costantemente *in*

toto. I granuli sono colorati sempre solo parzialmente. Come gli studi di Golgi dimostrarono, il dendrito principale delle cellule mitrali attraversa l'ampio strato molecolare e termina nei glomerali olfattivi. Dal dendrito principale e dal corpo cellulare partono numerose ramificazioni protoplasmatiche secondarie che si distribuiscono nello strato molecolare. Le cellule fusiformi dello strato molecolare si comportano come le cellule mitrali. Esse hanno quindi, come le mitrali, un ricco sviluppo dei prolungamenti protoplasmatici, i quali, prima di esaurirsi attraversano uno spazio ragguardevole.

Retina. — Tutte le cellule nervose della retina: cellule dei coni e dei bastoncini, bipolari, ganglionari, orizzontali ed amacrine si colorano soltanto parzialmente. Per il piccolo spessore della retina lo sviluppo dei prolungamenti protoplasmatici, quando esiste in queste cellule, è scarsissimo, essendo ridottissimi gli strati molecolari.

Concludendo: Col metodo qui descritto alcuni tipi cellulari si colorano *sempre* solo parzialmente, come le cellule dei gangli spinali, le cellule unipolari del mesencefalo, i granuli del cervelletto e del bulbo olfattivo, le cellule amacrine della retina, ecc.

Altri tipi cellulari si colorano *costantemente in toto* fino nelle minute ramificazioni cellulari, come le cellule di Purkinje, parte delle cellule piramidali della corteccia cerebrale, le cellule piramidali del corno d'Ammone, le cellule mitrali e fusiformi dello strato molecolare del bulbo olfattivo.

In un gran numero di segmenti del sistema nervoso si trovano mescolati i due tipi cellulari, anche negli stessi punti del preparato, con prevalenza ora dell'uno, ora dell'altro.

Sembra che le cellule colorate solo parzialmente si riscontrino a preferenza negli spazii lasciati liberi da fasci di fibre nervose che le circondano e si mettono in istretto rapporto con esse. Si ha invece l'impressione che le cellule colorate *in toto* siano sovrapposte alle fibre nervose col loro asse disposto trasversalmente od obliquamente alla direzione delle fibre.

Se si considerano poi quelle cellule colorate *in toto* nelle quali

riescono evidenti con questo metodo fin le più minute ramificazioni dei dentriti, si riconosce che esse appartengono a gruppi cellulari nei quali i prolungamenti protoplasmatici sono molto sviluppati e che non si ramificano nell'immediata vicinanza della cellula ma che, almeno in parte, per mezzo di un grosso tronco principale fuorescono dallo strato nel quale si trovano le cellule, per recarsi nel vicino strato molecolare, come è il caso appunto delle cellule di Purkinje, piramidali della corteccia cerebrale e del corno d'Ammone, mitrali del bulbo olfattivo e si può dire anche fusiformi dello strato molecolare del bulbo olfattivo.

In questi strati molecolari (cervelletto e telencefalo) le cellule e le fibre nervose sono relativamente più scarse che non nelle altre parti del sistema nervoso (astrazione fatta delle ramificazioni dendritiche), e qui i prolungamenti protoplasmatici hanno quindi ampiamente campo a svilupparsi.

Si può quindi ritenere con sicurezza assoluta che le cellule colorate *in toto*, nelle quali anche le minute ramificazioni dendritiche appaiono colorate, appartengono ad un tipo di cellule con terminazione distale dei dendriti e con grande sviluppo dei prolungamenti protoplasmatici.

Da questo si passa ad un tipo cellulare in cui si ha solo colorazione parziale del corpo cellulare, a traverso ad un grande gruppo di cellule nelle quali si ottiene con questo metodo la colorazione *in toto* del corpo cellulare e dei grossi tronchi protoplasmatici, ma non delle più minute ramificazioni protoplasmatiche. È probabilissimo che queste cellule rappresentino elementi in cui i prolungamenti protoplasmatici sono meno sviluppati che non nel gruppo precedente, ma molto più sviluppati che non nelle cellule con colorazione soltanto parziale del corpo cellulare. Infatti una parte di quest'ultimo gruppo non ha affatto prolungamenti protoplasmatici, come appunto le cellule dei gangli sensitivi, cerebrali e spinali, le cellule unipolari del mesencefalo, o li ha appena rudimentali come le cellule bipolari e ganglionari della retina, i granuli del cervelletto ecc.

Noi abbiamo quindi in questo metodo un mezzo per riconoscere se una cellula appartiene al tipo con grande o con piccolo sviluppo dei prolungamenti protoplasmatici.

Queste differenze nella colorabilità dei varii tipi cellulari si riscontrano esattamente uguali già nel neonato, malgrado che in essi la cellula non abbia ancora raggiunto il suo massimo sviluppo, e i prolungamenti protoplasmatici a ramificazione distale non siano ancora arrivati al limite esterno dello strato molecolare.

Come esistono vie lunghe e vie brevi nei prolungamenti nervosi, così esistono prolungamenti protoplasmatici a terminazioni distali (o almeno disto-prossimali e prossimali). Tra i due gruppi esistono tipi cellulari con medio sviluppo dei prolungamenti protoplasmatici; finalmente alcuni gruppi cellulari ne mancano affatto, e in essi le loro funzioni sono assunte dal corpo cellulare stesso. Il metodo qui descritto permette di riconoscere con sicurezza i vari tipi cellulari.

Se si considera l'ufficio del prolungamento protoplasmatico, risulterà evidente l'importanza di questa distinzione. Come dicemmo, la differenza tra i due ordini di prolungamenti non consiste solo nel senso della conduzione nervosa, ma nel diverso ufficio che, dipendentemente da questo diverso senso della conduzione nervosa, i due ordini di prolungamenti assumono. Le associazioni delle conduzioni nervose si possono fare per due vie: o pel cilindrasse, il quale per mezzo delle collaterali mette in rapporto le cellule d'origine con neuroni più o meno vicini (cellule di Golgi) o lontani; o pel prolungamento protoplasmatico, il quale senza punto escludere che possa avere anche un ufficio nutrizio per la cellula, non si potrebbe ormai negare con sicurezza che non abbia anche un ufficio di conduzione nervosa cellulipeta. Ora nelle cellule a grande sviluppo dei dendriti, e soprattutto in quelle con prolungamenti protoplasmatici a ricca ramificazione distale, questi raccolgono e portano gli stimoli nervosi da parti relativamente lontane, o da grandi superfici, o da neuroni di diverso tipo e li trasmettono al corpo cellulare, o al cilindrasse, che ne diparte.

Se si vogliono considerare come cellule eisboliche quelle che portano gli impulsi direttamente dalla periferia al centro (cellule dei gangli sensitivi periferici, bipolari della retina, ecc.) ed ecboliche quelle che dal centro direttamente alla periferia (per es. le cellule radicolari dei corni anteriori) (1); le altre cellule si potrebbero denominare cellule metaboliche, in quanto che raccolgono gli stimoli da alcuni neuroni per trasmetterli a lor volta ad altri. Sono quindi cellule d'associazione, sotto il qual nome oggi vanno però sopratutto considerate le cellule del Golgi le quali, per mezzo del cilindrasse breve che si ramifica ampiamente, mettono in rapporto le conduzioni nervose cellulifughe con un certo numero di neuroni vicini (2) e potrebbero quindi essere chiamati metaxoneuroni (3). Ma accanto ad essi vanno considerati i metadendroneuroni, come, p. es., i neuroni con prolungamenti protoplasmatici a ramificazione distale (4), i quali mediante questo grande sviluppo di dendriti mettono in rapporto una serie più o meno grande di impulsi nervosi cellulipeti provenienti da neuroni diversi col corpo delle cellule, o direttamente col suo cilindrasse. Nel primo caso si ha una forma di associazione cellulifuga; nel secondo cellulipeta; nel primo caso, per trasportare la questione nel campo della psicologia, si ha una determinata rappresentazione che viene associata ad altre, rispetto alle quali essa non rappresenta che una parte passiva nel processo dell'ideazione; nel secondo è la rappresentazione stessa che attivamente associa da altri gruppi le immagini che le sono più affini.

Si può obbiettare che il trovare le cellule colorate *in toto* può dipendere non da differenze chimiche legate a maggiore o minore sviluppo dei prolungamenti protoplasmatici, ma:

---

(1) Di queste alcune sono adendritiche, come le cellule del nucleo accessorio (motore) del trigemino.

(2) Di queste pure alcune sono adendritiche, come le cellule amacrine della retina.

(3) Le cellule del Golgi appartengono al tipo delle cellule colorate solo parzialmente col metodo qui descritto.

(4) Essi si colorano in toto con questo metodo.

a) dalla durata dell'azione del fissativo sui pezzi da esaminare;

b) dalla durata della decolorazione;

c) dallo spessore del preparato;

d) da differenze di razza o individuali.

Ma nessuna di queste obbiezioni distrugge e nemmeno diminuisce il valore dei reperti esposti in questo lavoro:

a) la durata dell'azione del fissativo non ha altra influenza fuorchè di rendere più o meno evidente, più o meno elegante e perfetta la reazione; ma dal terzo giorno in avanti i due tipi cellulari appaiono costantemente, purchè i pezzi siano freschi, non abbiano subìto maltrattamenti ed abbiano lo spessore voluto. D'altra parte per ovviare a questa obbiezione, benchè non abbia alcun valore, scelsi sempre per questo lavoro soltanto i pezzi tenuti sei giorni nel fissativo;

b) Ad una decolorazione troppo prolungata nessun elemento, per quanto cromofilo, resiste. Ma facendo sezioni sempre di uguale spessore, colorandole per un determinato lasso di tempo sempre uguale, decolorandole con soluzioni matematicamente esatte, che agiscano per un tempo determinato, si hanno sempre i reperti descritti, nelle varie sezioni dell'asse cerebro-spinale.

c) Lo spessore del preparato deve essere sempre uguale, cosa punto difficile ad ottenere quando la serie dei passaggi in alcool, celloidina e paraffina sia esattamente compiuta. Certo il metodo richiede una precisione nella tecnica superiore a quella che comunemente è sufficiente per molte indagini istologiche. D' altra parte nello stesso preparato, vicinissimi gli uni agli altri, anche a contatto tra loro, si possono riscontrare i due tipi, il che esclude che il reperto sia dovuto a differente spessore della sezione, come pure il fatto che alcuni tipi cellulari sono costantemente colorati *in toto* ed altri solo parzialmente.

d) Esistono, è vero, differenze nelle varie specie, ed individuali. Ma i dati sicuri che ho qui esposti sono uguali per tutti gli individui e per tutte le specie studiate. Così tutte le

cellule di Purkinje, a modo d'esempio, son colorate *in toto;* tutte le cellule dei gangli sensitivi periferici sono colorate solo parzialmente. Differenze si riscontrano a seconda della razza e degli individui per i segmenti del sistema nervoso in cui si riscontrano entrambi i tipi cellulari, perchè le loro proporzioni possono essere diverse. In un altro lavoro saranno studiati alcuni segmenti del sistema nervoso sotto questo punto di vista.

Gennaio 1895—Giugno 1900.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 11.

Istituto di Patologia generale della R. Università di Padova.
(Prof. I. Salvioli).

QUALE INFLUENZA ESERCITA SULLA COAGULAZIONE

IL DIRETTO CONTATTO DEL SANGUE COI TESSUTI

CONTRIBUTO SPERIMENTALE

alla conoscenza del processo della coagulazione del sangue

PEL

Dott. **Saverio SPANGARO**
Aiuto.

Intorno a pochi argomenti si è rivolta tanto insistentemente l'indagine degli osservatori, come intorno al fenomeno della coagulazione del sangue. Tuttavia noi non possiamo ancora dire di bene conoscere l'intimo meccanismo per cui il sangue, uscendo dai vasi, dopo un certo tempo coagula, e dovrà forse passare molto tempo, prima che l'interpretazione più prossima al vero possa esser formulata.

Nella lusinga che le mie ricerche possano in qualche modo riuscire di contributo alla conoscenza del difficile argomento, mi accingo a darne relazione.

Io attendeva allo studio dell'influenza che il peptone esercita sul sangue degli uccelli (1), allorquando presi conoscenza di due memorie di Delezenne (2) nelle quali erano esposti alcuni fatti analoghi a quelli che io trovava, e che differivano

dai miei principalmente per la diversa intensità con cui il citato autore li verificava.

Delezenne infatti afferma che togliendo direttamente dal torrente circolatorio il sangue degli uccelli, questo « nel maggior numero dei casi si mantiene perfettamente liquido per più giorni ».

Siccome però non mi era mai riuscito durante le accennate ricerche sull'azione del peptone, di verificare l'interessante fenomeno negli ampî limiti descritti dal Delezenne, così mi è sembrato conveniente riprendere lo studio dell'argomento, ponendomi nelle stesse condizioni in cui questo autore aveva fatto le sue esperienze.

Analoghe indagini estesi anche ai mammiferi per vedere se in essi parimenti la coagulazione variasse, a seconda del modo con cui il sangue veniva estratto dai vasi.

METODO DI RICERCA.

Le esperienze venivano eseguite su animali, che da 14-16 ore erano tenuti lontani dal cibo. I risultati che si ottengono in queste condizioni sono più evidenti.

Agli animali, se uccelli — (*pollo*, *colombo*, *anitra*) — venivano strappati almeno 24 ore prima dell'esperienza, tutte le penne della regione nella quale si doveva isolare un vaso (vena od arteria) — se mammiferi — (*cane*, *coniglio*, *cavia*) — veniva raso il pelo.

Generalmente si ricerca negli uccelli l'arteria ascellare, come quella che per il calibro e per la sua disposizione topografica riesce più facilmente reperibile; nei mammiferi invece la carotide, o l'arteria femorale.

Lavati con soluzione fisiologica e diligentemente asciugati i tessuti esterni, questi venivano incisi con strumenti bene puliti e che erano stati prima bolliti in acqua distillata e poi con cura asciugati mediante garza sterilizzata.

Isolato il vaso sanguigno, esso veniva riparato dal contatto

coi tessuti mediante listerelle di carta bibula, che gli venivano passate al disotto.

Sottili cannule di vetro, non taglienti, venivano spinte a traverso piccole ferite dei vasi, lontano dal punto di ingresso.

Delezenne si valeva di cannule salivari; dopo alcune prove io ho preferito sostituire ad esse le cannule di vetro, che avevo già in precedenza usate, come quelle che mi mettevano più facilmente al riparo da possibili lesioni del vaso durante l'agitarsi dell'animale, e la cui pulitura poteva essere più facilmente controllata.

Le due estremità delle cannule non dovevano mai essere toccate, o venire in alcun modo in contatto colla ferita.

Così disposto per l'esperimento, allentando il filo che avevo passato al disotto del vaso, centralmente alla cannula, raccoglievo, evitando scosse, ad intervalli di 2, 5, 10 minuti, in tubetti di vetro della capacità di 6 cc. a fondo arrotondato, piccole quantità di sangue (2-4 cc. per tubetto).

Tanto la cannula come i tubi prima di venire usati avevano subìti i seguenti trattamenti: erano stati accuratamente lavati e bolliti in acqua distillata ed asciugati nella stufa a 115°-120°. La bocca di ciascun tubetto era protetta da un cappuccio di carta.

Questo era l'ordinario procedimento; se talvolta furono variate alcune condizioni di esperimento, queste verranno a suo tempo ricordate.

I.

Esperienze eseguite sugli uccelli.

Si afferma generalmente dai fisiologi che il sangue degli uccelli estratto da un vaso senza alcuna precauzione, ad es. per mezzo di una semplice ferita, coagula molto prontamente, nel termine cioè di pochi secondi.

Ciò infatti è vero; quando però raccogliamo il sangue di questi stessi animali per mezzo di una cannula introdotta

nel vaso sanguigno, noi abbiamo un comportamento affatto diverso, il sangue cioè coagula molto tardamente, vale a dire dopo qualche ora.

Estraendo infatti dall'arteria ascellare di un colombo, con le norme già descritte, tre saggi di sangue, e a breve intervallo, altri saggi di sangue, che cadendo dalla cannula erano solamente trascorsi sulla ferita praticata per isolare il vaso, potevo colla massima evidenza constatare, come già aveva fatto il Delezenne, che il momento in cui interviene negli uni e negli altri campioni la coagulazione, è molto diverso, è, vale a dire, lento nei primi, rapidissimo nei secondi.

Io ho ripetuto anche sugli altri animali (pollo, anitra) la stessa esperienza, giungendo sempre allo stesso analogo risultato.

Ho potuto osservare cioè che *allorquando si raccoglie direttamente dal torrente circolatorio il sangue di uccello, esso si conserva liquido per un tempo relativamente lungo e che oscilla in via generale da 3 a 12 ore; — nel caso invece in cui il sangue venga direttamente in contatto coi tessuti, esso coagula con straordinaria rapidità, cioè dopo 1'-2' minuti dall'estrazione.*

Avendo affermato che il sangue di uccello raccolto direttamente dal torrente circolatorio coagula dopo un periodo di tempo oscillante in media da 3-12 ore, ho detto che esso coagula entro limiti abbastanza variabili.

A questo proposito devo aggiungere che il tempo di coagulazione può variare non solo da una specie ad un'altra, o da individuo ad individuo, ma anche fra i singoli saggi appartenenti allo stesso individuo.

Io non sono per ora in grado di sicuramente interpretare da quali condizioni dipenda questo diverso comportamento.

Il fatto principale sul quale ho richiamato specialmente la attenzione del lettore è il comportamento essenzialmente differente che il sangue presenta rispetto al tempo di coagulazione, a seconda che esso è stato raccolto con l'una o con l'altra maniera. — Una tale differenza la si può sempre ri-

scontrare colla massima evidenza, ma non sono però mai riuscito a mantenere liquido per più giorni il sangue di uccello, raccolto colle dovute cautele, il che, come afferma Delezenne, dovrebbe essere la regola.

Per parte mia al contrario devo affermare di avere osservato solo in via eccezionale coagulare il sangue degli uccelli dopo un periodo di 24-36 ore dall'estrazione (anitra).

Oltre che il tempo grandemente diverso in cui avviene la coagulazione a seconda che il sangue fu portato, o meno, in contatto diretto di tessuti, noi riscontriamo nel coagulo alcuni caratteri esteriori, i quali da soli ci rivelano con sicurezza il modo secondo il quale si è estratto il sangue.

Il sangue che fu tolto direttamente dal torrente circolatorio presenta un coagulo diviso in due parti, una inferiore rossa, o corpuscolare, l'altra superiore, gialla, o plasmatica.

Tale coagulo non presenta mai la cosidetta retrazione e la separazione di siero.

Il sangue al contrario venuto in contatto dei tessuti, si presenta nel primo tempo sotto forma di una massa rossa omogenea, che si ritrae in seguito e dalla quale viene separandosi abbondante quantità di siero.

Ecco in breve come procedono le cose, nell'uno e nell'altro caso.

Sangue tolto direttamente dal torrente circolatorio.

Possedendo questo sangue la proprietà di rimanere liquido per alcune ore, *dopo 40'-50' minuti* da che esso è stato estratto, calando gli elementi morfologici verso le parti più basse del tubo, comincia a comparire alla superficie uno strato di plasma, giallo, non bene trasparente. Continuando il sangue a mantenersi liquido, continuano gli elementi a discendere, per cui aumenta l'altezza dello strato plasmatico, che si rende ognora più trasparente.

Dopo un certo tempo, si arresta la divisione della colonna sanguigna in due strati, plasmatico il superiore, corpuscolare l'inferiore, e nel limite tra l'uno e l'altro si addensano, sotto

forma di un sottile straterello biancastro, quegli elementi, per lo più leucociti e piastrine, che intorbidavano nei primi periodi il plasma.

I $^{2}/_{3}$ circa della colonna sanguigna appartengono allo strato inferiore o corpuscolare, l'altro terzo allo strato superiore, o plasmatico. Devo dire *circa*, poichè essendo la deposizione degli elementi subordinata allo stato di fluidità del sangue, e mancando questa dopo periodi di tempo diversi, ne viene di conseguenza che l'altezza maggiore o minore dei due strati è in rapporto col periodo di tempo, durante il quale il sangue si è mantenuto liquido.

Come sono morfologicamente costituite le diverse parti di cui abbiamo finora parlato?

Se la separazione in due strati si è verificata da poco tempo, ad es. da 1 ora, noi incontriamo ancora numerosi, per tutta l'altezza del cosidetto strato plasmatico, i tre elementi morfologici del sangue, sempre più numerosi però di mano in mano che noi ci avviciniamo alla zona intermedia esistente tra lo strato plasmatico ed il corpuscolare.

Se la separazione si è verificata da un tempo maggiore, ad es., da 2, 4 o più ore, si constata allora che gli elementi esistono ancora benchè più scarsi, nelle parti superiori dello strato plasmatico, e che lo strato intermedio è formato a preferenza da leucociti e da piastrine.

Le emazie, i leucociti, le piastrine che nei primi periodi si incontravano separati, ora si mostrano di preferenza in accumoli, disposizione questa che più di frequente, ed in modo più esagerato, si verifica per le piastrine. — Lo strato corpuscolare invece è costituito a preferenza da globuli rossi, fra i quali però non mancano leucociti e piastrine.

Donde ha inizio la coagulazione?

Io non mi accordo anche su questo col Delezenne. Egli infatti afferma che la coagulazione comincia in quella porzione dello strato plasmatico che è in più diretto contatto con

lo strato intermedio e di là, come pure dalla periferia del tubo, va estendendosi, in guisa da formare una specie di sacco, nel quale è contenuto il sangue ancor liquido.

Orbene, stando a quello che io ho potuto ripetutamente osservare, la coagulazione ha inizio dalla superficie esterna, o superiore della porzione plasmatica, e di là gradatamente discende verso le altre.

Io credo che ognuno possa facilmente persuadersi che così procede il fenomeno, ricorrendo alla seguente semplice prova.

Nel valutare lo stato di fluidità di un saggio di sangue, avviene ad un certo periodo di poter inclinare lateralmente il tubo, senza che per questo abbia a cambiare di posizione la superficie di livello della colonna sanguigna, perchè lo impedisce appunto uno straterello solido superficiale, che si è da poco formato.

Essendo infatti ancor liquida la massa sanguigna sottoposta, ne viene di conseguenza che inclinando maggiormente il tubetto, questa vince la resistenza della pellicola superficiale, la rompe, e si dispone secondo quella superficie di livello che l'inclinazione del tubo richiede.

Se giunti a questo periodo della coagulazione, si colloca il tubetto in una posizione intermedia tra la verticale e l'orizzontale, ma in modo da non rompere la pellicola, si può vedere allora che mentre non muta la superficie di livello, la parte corpuscolare invece si muove per disporsi, col variare delle inclinazioni, secondo un piano parallelo al piano orizzontale.

Se l'inclinazione del tubo è sufficiente, lo strato corpuscolare può giungere a toccare la cuticola plasmatica superficiale, poichè esso non incontra alcuna resistenza nel resto dello strato plasmatico, ancor liquido.

Più tardi lo strato corpuscolare, benchè l'inclinazione sia sufficiente, non può più arrivare fin sotto la superficie libera dello strato plasmatico, ma esso è costretto ad arrestarsi ad un livello progressivamente più lontano dalla superficie, appunto perchè l'altezza dello strato plasmatico coagulato viene aumentando dall'alto al basso, e finalmente giunge un mo-

mento in cui il livello della porzione corpuscolare non subisce più alcun spostamento, qualunque sia il grado di inclinazione del tubo.

Si sarebbe potuto allora pensare che la coagulazione si fosse estesa a tutta la massa sanguigna, ma ciò in realtà non era, perchè se noi estraevamo la parte plasmatica già coagulata, avevamo ancora nel tubo, completamente fluido lo strato inferiore o corpuscolare, al quale anche in seguito si estendeva la coagulazione, si riponesse, o meno, la parte da prima coagulata.

Secondo la mia osservazione dunque, nel sangue raccolto direttamente dal torrente circolatorio, la coagulazione ha inizio dalla superficie, e da qui gradatamente si estende alle altre parti dello strato plasmatico prima, del corpuscolare poi.

I maneggi più sopra descritti per stabilire il tempo di coagulazione del sangue ne accelerano il processo, avendo potuto osservare che saggi lasciati completamente in riposo si mostrano liquidi per un tempo più lungo.

Sangue venuto in diretto contatto dei tessuti.

Il modo di comportarsi di un tale sangue è, come dicemmo, grandemente diverso dall'altro, che non è venuto in contatto dei tessuti.

Già lo si riconosce al primo momento, poichè mentre il sangue che fu preso direttamente dal torrente circolatorio, lascia deterse le pareti del tubo lungo il quale scorre, quello che è venuto in contatto diretto dei tessuti ne lascia segnata con una striscia rossa la via percorsa nella discesa, tanto è rapido il processo di coagulazione a cui va incontro questo sangue.

Trascorsi infatti solo pochi secondi (40″-50″) dall'estrazione, si può capovolgere il tubetto ed imprimere ad esso degli urti abbastanza violenti, senza che per questo abbia ad uscire del sangue, poichè esso si è convertito già in un coagulo.

Dopo un'ora circa dall'estrazione, appare alla superficie la prima goccia di siero e poco dopo si nota l'inizio della retrazione del coagulo, retrazione la quale deve continuare per parecchie ore, prima di giungere al grado definitivo.

Di solito il coagulo si stacca dal fondo del tubo e dalle pareti, rimanendo sospeso nel proprio siero, aderendo verso la superficie libera a tutta la periferia del tubo e poggiando appunto su quel lato, lungo il quale è disceso il sangue nel momento dell'estrazione.

Altre condizioni

capaci di influire sulla coagulazione del sangue.

Per tentare di giungere ad una più esatta conoscenza del fenomeno che avevo fatto oggetto del mio studio, ho pensato di variare in più modi le condizioni di esperimento, ricorrendo talvolta ad artificii già da altri usati.

Eccone brevemente i risultati.

Più volte, ad imitazione di Delezenne, nel mentre ricercavo ad un uccello l'arteria, asportavo dallo stesso animale un pezzo di muscolo, che lasciavo cadere sul fondo di un tubetto, preparato secondo il metodo.

Altre volte invece con un pezzo di muscolo ne stropicciavo le pareti interne dei tubi, senza quindi abbandonarvi il tessuto. La stessa cosa ripeteva con dei coaguli di sangue, appartenenti all'animale su cui esperimentavo; così disposto per l'esperienza, cominciava a raccogliere dei saggi di sangue e ad osservare il tempo che ciascuno di essi saggi impiegava a coagulare, confrontandolo sempre col tempo impiegato da saggi di sangue dello stesso animale, raccolti in tubi preparati secondo il metodo.

Il risultato costante fu che *nelle sopradescritte condizioni, la coagulazione resta notevolmente affrettata, ma non così come nel caso in cui il sangue venga in diretto contatto della ferita.*

Osserviamo cioè che in questi casi il sangue coagula dopo 7, 10, 15 minuti, mentre nel caso che il sangue scorra sulla ferita, la coagulazione si verifica, come già sappiamo, ancor più celermente, cioè dopo 1-2 minuti.

Freund (3) avendo osservato che il sangue ricevuto in vasi

spalmati di vasellina non coagula, o meglio coagula con ritardo, come stabilì più tardi Barrier (4), aveva voluto trovare nella possibilità che hanno gli elementi di aderire ai vasi in cui sono raccolti, la ragione per cui il sangue estratto coagula.

Ripetendo l'esperienza di Freund col sangue degli uccelli, ho veduto che anche presso questi animali può la vasellina indurre un ritardo nella coagulazione, ma la sua azione scompare completamente in quei saggi di sangue che vennero precedentemente a contatto della ferita.

In seguito mi sono domandato se tutti i trattamenti ai quali sottoponevo i tubi, le cannule di vetro, gli istrumenti (lavaggio, bollitura, essiccamento) e le svariate cautele che usavo durante l'esperienza, potessero avere una certa parte nel risultato finale.

Per mettere meglio in evidenza questa supposta influenza, ho provato a trascurare alcune di queste regole e vedere come si presentava il fenomeno della coagulazione.

Accanto ai tubi preparati secondo il metodo, ne ho presi degli altri i quali rispettivamente erano stati o semplicemente lavati con acqua *fontis*, o con acqua distillata, o con soluzione fisiologica di NaCl, e che io adoperava, ora asciugati solamente alla temperatura ambiente, ora ancora leggermente umidi.

A questo proposito devo dire come non mi sia stato possibile constatare una sicura differenza nel tempo impiegato a coagulare, tra il sangue raccolto in tubi semplicemente lavati con acqua comune ed asciugati alla temperatura ambiente, e quello raccolto in tubi preparati secondo il metodo, mentre invece la coagulazione restava affrettata se il sangue veniva ricevuto in tubi nei quali si trovassero ancor tracce d'acqua.

Questi risultati mi persuasero quindi che le condizioni da me usate, e cioè la perfetta pulizia dei tubi, come pure il loro stato di secchezza erano condizioni che favorivano in un certo grado, il tardo comparire del processo della coagulazione.

Prima di chiudere questo capitolo, voglio in modo speciale richiamare l'attenzione del lettore su di un fatto generale e

che ho potuto constatare durante le esperienze sopra ricordate, voglio dire sulla mancanza o meno, della *retrazione del coagulo.*

Io posso affermare che *tutte le volte che si raccoglie del sangue di uccello in quelle qualunque speciali condizioni le quali siano capaci di permettere una coagulazione relativamente lenta, in tutti questi casi manca la retrazione del coagulo e la separazione di siero, mentre l'una e l'altra si verificano sempre nel caso in cui si abbia una coagulazione relativamente rapida.*

Per coagulazione *relativamente lenta* intendo una coagulazione che avvenga in modo un po' meno lento di quella del sangue tolto direttamente dal torrente circolatorio, che per me rappresenta, nel caso speciale, la coagulazione più lenta, e per coagulazione *relativamente rapida*, intendo una coagulazione che si verifichi un po' meno rapidamente di quella del sangue venuto in contatto coi tessuti, e che rappresenta per me la coagulazione più rapida.

In relazione col risultato precedente sta l'altro fatto, che cioè *quanto più rapidamente la coagulazione avviene, tanto più presto appare alla superficie la prima goccia di siero, come indice della inizìantesi retrazione.*

Il fatto della mancata retrazione del coagulo non è nuovo nel campo della fisio-patologia.

Hayem (5) infatti lo osservò presso l'uomo in alcuni speciali stati morbosi (porpora emorragica, anemia perniciosa progressiva, cachessia palustre), Salvioli (6), Cavazzani (7) in alcune condizioni sperimentali.

Salvioli osservò per il primo che il sangue di coniglio dopo l'iniezione di peptone coagula bensì, ma esso non subisce alcuna retrazione, come pure lo stesso comportamento offre il sangue di cane dopo l'iniezione di alcuni colori di anilina (Cavazzani).

II.

Esperienze eseguite sui mammiferi.

Dopo aver constatati sugli uccelli i fatti precedentemente descritti, ho voluto indagare se ad analoghi risultati si giungesse col sangue di mammiferi, dei quali il Delezenne non parla che in un breve cenno. La tecnica seguita fu la medesima; gli animali usati erano adulti, ben portanti e non avevano subìto in precedenza alcun trattamento sperimentale.

Dirò subito che si può verificare anche presso questi animali il fenomeno più importante che abbiamo visto intervenire negli uccelli, anche *il sangue cioè di questi mammiferi preso direttamente dai vasi sanguigni (vena od arteria) impiega a coagulare un tempo molto più lungo di quello che impieghi lo stesso sangue che prima di venir raccolto venga in contatto coi tessuti. Il fenomeno però non si verifica nelle proporzioni descritte presso gli uccelli.*

Osserviamo brevemente alcune differenze.

I. — *Il sangue di cane, cavia, coniglio, estratto direttamente dal torrente circolatorio*, rimane liquido per uno spazio di tempo abbastanza lungo, ma che varia da animale ad animale. *Questo tempo va da un minimum di 10' minuti fino ad oltre un'ora.*

Dei tre animali sopra menzionati, il coniglio possiede il sangue meno rapidamente coagulabile; però questa più lenta coagulabilità del sangue del coniglio in confronto di quello del cane e della cavia non si verifica costantemente.

La coagulazione non compare in modo repentino, ma gradatamente; il sangue prima liquido, si fa in seguito meno scorrevole, comincia quindi a coagulare la parte superiore della colonna sanguigna, e di là il processo si diffonde alle parti sottostanti.

Spesso si crede che tutta la massa sanguigna sia coagulata, poichè il sangue, anche contro urti violenti, non cambia di forma; togliendo allora la parte superiore, già solida, si constata che le sottostanti sono ancor liquide.

Tutti questi maneggi disturbano certamente il normale andamento del processo, per cui convien sempre avere a nostra disposizione parecchi saggi per poter più esattamente stabilire il tempo di coagulazione del sangue di un dato animale.

Dopo un periodo che varia anche qui, come presso gli uccelli, da specie a specie non solo, ma da animale ad animale della stessa specie, generalmente dopo un periodo che oscilla tra 1-3 ore, comincia a comparire, da prima alla superficie del coagulo, una goccia di siero; la separazione di siero continua e dopo 2-4 ore dalla coagulazione, comincia a rendersi evidente anche la retrazione del coagulo, che si stacca e si solleva dal fondo del tubo.

La retrazione si inizia sempre nella parte superiore, cioè nella parte che prima e quindi più rapidamente coagula, e di là si estende verso le parti inferiori.

La retrazione del coagulo e con essa la separazione di siero, si arresta dopo 24-30 ore dall'avvenuta coagulazione.

A differenza dunque di quanto si verifica negli uccelli si può dire che il sangue dei mammiferi (almeno delle specie da me studiate) subisce la retrazione del coagulo, anche quando sia tolto direttamente dal torrente circolatorio.

A ricordare però il fatto che si osserva negli uccelli io ho constatato nei mammiferi questi due fatti:

1° *che il coagulo derivante dal sangue che non è venuto in contatto dei tessuti subisce un grado di retrazione minore di quello che subisca il coagulo del sangue passato sulla ferita;*

2° *che alcune volte il sangue di coniglio, preso direttamente dal torrente circolatorio, dà un coagulo che non subisce, appunto come quello degli uccelli, nè retrazione, nè separazione di siero.*

II. — Venendo ora a dire dei *saggi che furono messi direttamente in contatto coi tessuti*, si deve subito notare che essi presentano un comportamento diverso dai saggi precedenti.

Similmente a quanto fu descritto per gli uccelli, anche nei mammiferi, il sangue che è trascorso sulla ferita, trovasi già

dopo pochi istanti rappreso in una massa semifluida e ben presto in un vero coagulo.

Anche qui una striscia di sangue coagulato indica lungo le pareti, il lato sul quale il sangue è disceso.

In relazione ad una coagulabilità del sangue più rapida di quella che si avesse nel caso precedente (sangue raccolto senza contatto coi tessuti), si verifica anche più per tempo la separazione del siero (comparsa di una prima goccia alla superficie), separazione che io ho veduto in alcuni casi cominciare dopo 15-20 minuti dall'estrazione, mentre la retrazione si faceva manifesta solo dopo 40-70 minuti. La retrazione giunge, in questo secondo caso, al suo termine molto più celeremente che nel caso precedente (mancato contatto coi tessuti).

Anche nei mammiferi, quindi, analogamente a quanto si nota negli uccelli, osserviamo che quanto più rapida è la coagulazione, tanto più per tempo si inizia e con maggiore intensità e celerità si compie, la retrazione del coagulo, la separazione di siero.

III. — Se noi raccogliamo del sangue direttamente dal torrente circolatorio, ma lo facciamo arrivare in tubetti nei quali si trova un frammento di muscolo, delle traccie di sangue già cogulato, dei fiocchi di cotone ecc. (vedi tabella), anche in questo caso il sangue presenta una coagulabilità accelerata, messa questa a confronto con la rapidità di coagulazione del sangue raccolto direttamente dalla cannula.

Questa coagulabilità per quanto accelerata non lo è però mai tanto, come nel caso in cui il sangue abbia toccati i tessuti.

Risulta quindi dimostrato da questa seconda serie di esperienze un fatto generale molto importante e cioè che *anche presso i mammiferi si possono ottenere risultati completamente analoghi a quelli descritti presso gli uccelli; solo le proporzioni, secondo le quali questi fenomeni si manifestano presso i primi (mammiferi), sono diverse da quelle secondo le quali gli stessi fenomeni si verificano presso i secondi (uccelli).*

A maggior illustrazione delle esperienze sopra ricordate, riassumo in una tabella l'esito di alcune prove praticate sui mammiferi.

Condizioni in cui vengono raccolti i saggi di sangue.	Cane 1 Sangue arter.	Cane 2 Sangue arter.	Coniglio 1 Sangue venoso	Coniglio 2 Sangue arter.	Cavia 1 Sangue arter.	Cavia 2 Sangue arter.
	Tempo durante il quale il sangue si mantiene liquido					
Saggi di sangue che non vennero in contatto colla ferita.	1° coagula dopo 18' 2° » 22' 3° » 20'	1° coagula dopo 28' 2° » 36' 3° » 38'	1° coagula dopo 21' 2° » 19' 3° » 20'	1° coagula dopo 14' 2° » 18' 3° » 45'	1° coagula dopo 14' 2° » 45' 3° » 16'	1° coagula dopo 15' 2° » 10' 3° » 14'
Saggi di sangue venuti in contatto colla ferita.	1° » 1',20" 2° » 1'	1° » 1',50" 2° » 1',20"	1° » 50" 2° » 1',10"	1° » 1',20" 2° » 1',10"	1° » 50" 2° » 50"	1° » 1' 2° » 1',30"
Saggi di sangue raccolti in tubetti nel cui fondo si è posto un pezzo di muscolo.	1° » 1',20" 2° » 1'	1° » 4' 2° » 3',20"	1° » 5',20" 2° » 4',30"	1° » 5' 2° » 6',30"	1° » 1' 2° » 1',20"	1° » 2',10" 2° » —
Saggi di sangue raccolti in tubi le cui pareti furono strofinate con frammenti di muscolo appartenente all'animale in esperimento.	1° » 4' 2° » 4',30"	1° » — 2° » —	1° » 4' 2° » 5',30"	1° » 2' 2° » 5'	1° » 4' 2° » 4',30"	1° » 3' 2° » 2',50"
Saggi di sangue raccolti in tubi lordati con sangue che è venuto prima in contatto della ferita.	1° » 6' 2° » 3',30"	1° » 7' 2° » 8'	1° » 10' 2° » 7'	1° » — 2° » —	1° » 1',30" 2° » 1',30"	1° » 2',10" 2° » —
Saggi di sangue raccolti in tubi nel cui fondo fu deposto un piccolo fiocco di cotone.	1° » 10' 2° » 9'	1° » 8' 2° » 6'	1° » — 2° » —	1° » 4',50" 2° » 6',20"	1° » 6',30" 2° » 7'	1° » 7' 2° » 6'
Saggi di sangue raccolti in tubi spalmati di vaselina.	1° » 27' 2° » 30'	1° » — 2° » —	1° » 30' 2° » —	1° » 40' 2° » —	1° » — 2° » —	1° » — 2° » —

III.

Esame microscopico del sangue. Enumerazione degli elementi morfologici a periodi diversi dall'estrazione.

Ottenuti i risultati che sono venuto esponendo, mi sono domandato quale poteva essere la ragione per la quale lo stesso sangue, sottoposto ai trattamenti che già conosciamo, si comportava in modo tanto diverso.

Io ho voluto vedere allora se qualche aiuto per una risposta mi potesse venire dall'esame microscopico delle due varietà di sangue, di quello cioè a lenta coagulazione, — sangue preso direttamente dal torrente circolatorio, — e di quello a rapida coagulazione, — sangue venuto in diretto contatto dei tessuti.

Intrapresi da prima queste ricerche col sangue di uccello, ma perchè le eventuali modificazioni che avessi potuto riscontrare, non si credessero in vario modo artificialmente prodotte, ho voluto praticare l'esame del sangue oltre che nel plasma, in un liquido fissatore, la miscela cloro-osmico (1 p. sol. acido osmico all'1 $^0/_0$, 2 p. sol. fisiol. NaCl), che già per lunga esperienza di altri osservatori si sa essere ottima.

In un caso lasciavo cadere dalla cannula applicata al vaso sanguigno una goccia di sangue in un vetrino d'orologio, dove si trovava del liquido fissatore, nell'altro caso la lasciavo cadere dalla ferita, in contatto della quale il sangue era rimasto per 10″-15″ secondi. Con questa miscela di liquido fissatore e sangue allestivo dei preparati. Con una tale esperienza riesce già possibile ad occhio nudo distinguere l'una qualità di sangue dall'altra.

Il sangue infatti che è stato preso direttamente dal torrente circolatorio si distribuisce uniformemente tra vetro porta-oggetti e copri-oggetti, mentre quello che ha toccato i tessuti della ferita si dispone a grumi irregolari.

ammassi, quasi si fossero fuse insieme col loro protoplasma, e sono così fortemente stipate le une contro le altre, da sembrare non più grumi di cellule, ma gruppi di nuclei.

In altri casi l'alterazione è ancora più avanzata, poichè l'accumulo di piastrine si è convertito in una massa granulare, nella quale anche i nuclei più resistenti tendono a scomparire, rimanendo sostituiti da leggeri opacamenti ovalari, che ricordano la disposizione primitiva dei nuclei.

Detti ammassi si trovano il più delle volte uniti o circondati da altri di emazie, e fra loro, o vicino a loro, si vedono dei leucociti, questi però in nulla modificati nel loro aspetto.

Le descritte alterazioni delle piastrine si osservano meglio in quelle poche piastrine che, o rimangono isolate, o si sono riunite in piccoli gruppi.

Io ho ripetuto molte volte una tale esperienza, riuscendo sempre allo stesso reperto microscopico.

Bastano cioè pochi secondi di contatto del sangue coi tessuti della ferita per ottenere una spiccata modificazione di forma e di distribuzione delle piastrine, accompagnata da una diminuzione del loro numero e da una accentuata tendenza di tutti gli elementi morfologici del sangue a riunirsi in gruppi. I globuli rossi ed i leucotici non subirebbero, secondo la mia osservazione, apprezzabili modificazioni del loro aspetto.

Io dovrei ora riferire il risultato che dà questa stessa esperienza praticata col sangue dei mammiferi, ma identico essendo il risultato anche presso questi animali, mi limito a riassumere i fatti dicendo che nel sangue che non è venuto in contatto coi tessuti, sia i globuli rossi, come i leucociti e le piastrine, sono tra loro separati o formanti gruppi di pochissimi elementi, tutti però ben conservati nel loro aspetto, mentre nel sangue che ha toccato la ferita le emazie sono riunite in grumi irregolari. Se fra questi scorgonsi raramente delle piastrine, esse sono riunite in accumoli di 30-50 o più elementi, fusi fra loro, gran parte dei quali già convertiti in ammassi di sostanza jalina.

Anche presso i mammiferi io non riuscii ad apprezzare alterazione morfologica delle emazie e dei leucociti.

Il risultato di queste esperienze mi ha suggerito un'altra ricerca: stabilito che togliendo ad un uccello il sangue direttamente dal torrente circolatorio, si riesce a mantenerlo incoagulato per più ore; ho voluto approfittare di questa condizione *per osservare e contare a diversi periodi di tempo dall'estrazione i tre elementi morfologici*, e sapere così come si presenta il loro aspetto, quale si conserva il loro numero.

Ad esempio di altri osservatori, tutte le volte che praticavo tali esperienze, procedeva nel modo seguente: stabiliva da prima coll'apparecchio Thoma-Zeiss il numero dei globuli rossi contenuti in 1 mmc. di sangue, indi a varie distanze dall'estrazione, cioè dopo 1, 2, 3 ecc. ore, prendeva uno dei diversi saggi di sangue che avevo a mia disposizione e lo agitavo delicatamente per avere una uniforme distribuzione degli elementi. Prendeva allora con una pipetta di vetro spalmata di paraffina una goccia di questo sangue, che versavo nella soluzione cloro-osmica. Con questo allestivo dei preparati (tre per ciascun saggio) che bordavo con paraffina. Un tubetto mi serviva per un solo esame.

Dopo di ciò eseguiva il conteggio degli elementi in un numero grande di campi microscopici, uno in contiguità con l'altro, in modo da percorrere il preparato da un capo all'altro ed in più direzioni. Il conteggio delle emazie mi riusciva agevolato dalla presenza nell'oculare di un vetrino quadrettato.

Segnava per ciascun campo, in tre diverse colonne, il numero dei globuli rossi, dei leucociti, delle piastrine. Da questi valori poteva allora, mediante semplici calcoli, stabilire il numero dei leucociti e delle piastrine che si trovavano in 1 mmc. di sangue, ad un dato periodo dall'estrazione del sangue.

I risultati ottenuti sono molto concordi ed io li posso così riassumere brevemente.

La distribuzione degli elementi morfolici del sangue è molto

differente a seconda che l'osservazione si compie in un periodo prossimo o lontano dall'estrazione.

Nelle prime ore gli elementi sono separati gli uni dagli altri, in seguito (dopo 4-7 ore), quanto più ci avviciniamo al momento della coagulazione, tanto più essi acquistano una tendenza a riunirsi irregolarmente in ammassi molto diversi fra loro per il numero degli elementi che li compongono.

Questo fatto è così caratteristico e costante, che dalla diversa distribuzione degli elementi sanguigni si può con sicurezza giudicare se quel dato campione di sangue è vicino o no, alla coagulazione.

Anche negli ultimi periodi, quando cioè il momento della coagulazione era vicino, non mi riuscì di apprezzare alterazioni di forma e di struttura dei globuli rossi e dei leucociti.

Negli ultimi periodi raramente incontriamo delle piastrine isolate, più di frequente esse sono conglutinate, comprendendo in mezzo a loro dei leucociti ed aderendo ad accumoli di emazie.

L'agglutinazione delle piastrine non compare repentinamente, ma in forma graduale, ed essa è preceduta e seguita da evidenti modificazioni del loro aspetto.

Passato infatti un certo periodo dall'estrazione (3 o più ore) le piastrine degli uccelli cominciano a sformarsi, ad assumere una forma rotondeggiante, di grandezza variabile, il nucleo si fa più opaco, uniforme, circondato da un alone di protoplasma irregolare, chè in parte è andato perduto.

Più tardi esse assumono una grande tendenza a conglutinarsi, molte piastrine si trovano riunite insieme, quasi per fusione del loro protoplasma, ed in seguito si mutano in ammassi di sostanza granulare in cui talvolta par ancor di distinguere le forme alterate dei nuclei.

Si assiste dunque ad una graduale e progressiva alterazione di questi elementi, fino al punto da non poterli più riconoscere.

Per quanto riguarda il risultato ottenuto dal conteggio degli elementi devo dire che il numero delle piastrine va diminuendo di mano in mano che si avvicina il momento della coagulazione.

Non così sembra avvenire pei leucociti, pei quali non mi riuscì di apprezzare nè diminuzione di numero, nè, come già dissi, alterazione di forma.

Non è a credere infine che queste particolari disposizioni degli elementi siano favorite dal liquido fissatore in cui essi vengono esaminati, poichè agli stessi risultati si giunse sia osservando il sangue in altri liquidi, come nel proprio plasma.

Continuando anche per lungo tempo l'osservazione di emazie o leucociti sospesi nel loro plasma non mi fu possibile apprezzare alcuna loro alterazione degna di nota.

Fatti analoghi a quelli precedentemente riportati si osservano nei mammiferi, ma poichè il tempo che intercede tra l'estrazione del sangue e il momento della coagulazione è in questi animali molto più breve che negli uccelli, così verificandosi i singoli cambiamenti in modo più rapido, essi riescono perciò meno evidenti. Si può tuttavia affermare che anche nei mammiferi il sangue estratto senza venire in contatto coi tessuti, subisce prima della coagulazione alcune modificazioni che sono del tutto analoghe a quella che ho prima descritto presso gli uccelli.

Riteniamo quindi come conclusione, che *il sangue estratto direttamente dal torrente circolatorio senza venire in diretto contatto coi tessuti, presenta una progressiva tendenza degli elementi morfologici a riunirsi in gruppi, di mano in mano che si avvicina il momento della coagulazione, ma che mentre nè le emazie, nè i leucociti offrirono alla mia osservazione alterazioni della loro forma, le sole piastrine mostrarono evidenti e gravi modificazioni di aspetto e di struttura, da giungere fino alla distruzione dell'elemento.*

IV.

Considerazioni.

I fatti principali che con queste esperienze ho in parte confermati, in parte osservati per primo, possono essere così riassunti:

1° Allorquando il sangue uscendo dal torrente circolatorio viene in diretto contatto dei tessuti della ferita, detto sangue coagula molto più celermente di quando sfugge a questo contatto (Delezenne, Spangaro).

2° Nel caso di affrettata coagulazione (contatto del sangue colla ferita, si può verificare una rapida alterazione di forma, ed una diminuzione del numero delle piastrine, coincidente con una spiccata tendenza degli elementi morfologici del sangue a riunirsi in ammassi (Spangaro).

3° Identiche modificazioni si producono in modo lento e progressivo, di mano in mano che si avvicina il tempo della coagulazione, in quel sangue che per la maniera con cui è stato raccolto (senza il contatto colla ferita), coagula lentamente (Spangaro).

Le cognizioni che oggi noi possediamo sul processo della coagulazione del sangue quale interpretazione ci suggeriscono per i fatti sopra ricordati?

Dai molti ed importanti lavori che si hanno sull'argomento (Schmidt, Hammarsten, Green, Arthus e Pagès (9), Pekelharing (10), Lilienfeld (11), Lilienfeld e Monti (12), Freund, Wooldridge) si apprende che qualunque sia la maniera secondo la quale si crede avvenire la coagulazione, in tutti si suppone come necessaria la presenza di un fermento, del cosidetto fermento-fibrina.

Da quali elementi deriverebbe esso?

Secondo l'opinioni di Schmidt, Fano (8), Hammarsten, Arthus e Pagès, Pekelharing, Lilienfeld, esso proverrebbe dai leucociti.

Detta opinione sarebbe anche sorretta da ricerche di Hoffmann, Samson-Himmelstierna, Heil, Rauschenbach, Gürber, Berg, Kruger, Harmsen, i quali credono poter affermare che nel sangue estratto avviene una certa distruzione di leucociti.

Ma queste osservazioni non possono essere con sicurezza accettate, perchè o mancano di prove dirette sperimentali, che non lascino adito alla nostra critica, o sono deduzioni ricavate indirettamente da altri esperimenti.

Per il fatto, ad es., che sottoponendo a lunghi trattamenti chimici dei gangli linfatici, si può da questi estrarre una sostanza capace di indurre la coagulazione intravascolare, una volta iniettata nel torrente circolatorio, non per questo si può dedurre con sicurezza che i globuli bianchi debbano essere proprio quelli che nella coagulazione vanno distrutti e forniscono il fermento necessario.

Di questa proprietà possono credersi dotati tutti gli elementi, e quindi anche, ma non a preferenza od esclusivamente, i globuli bianchi.

Ricorderò a questo proposito come già dal 1880 Foà e Pellacani (13) siano venuti nel concetto che l'origine del fermento-fibrina non deve ricercarsi in un solo elemento (globuli bianchi), sibbene in varii altri elementi anatomici, concetto che più tardi gli allievi stessi di Schmidt accettarono e svolsero.

Rauschenbach infatti nel 1883 espose il concetto che il fermento sia un prodotto generale della cellula, nel mentre Foà e Pellacani (13), in una interessante serie di ricerche poterono estrarre del fermento-fibrina da differenti visceri (cervello, capsule soprarenali, testicoli, milza).

Parimenti il fibrinogeno dei tessuti di Wooldridge veniva estratto dai più svariati tessuti, come pure il cosidetto nucleoistone di Lilienfeld (11) che, iniettato in circolo, si comporta come il fibrinogeno dei tessuti, determinando delle coagulazioni, specie del sistema portale, può esser fornito dalle piastrine, dalla testa degli spermatozoi, dai nuclei cellulari in generale.

Tutti gli elementi dunque possono fornire al sangue quel *quid* necessario perchè la coagulazione avvenga, non i soli leucociti.

Ma può stimarsi veramente provato che durante il processo della coagulazione avvenga questa supposta distruzione di globuli bianchi?

Contro questa opinione si è schierata l'osservazione di autorevoli ricercatori, primo fra gli altri il Bizzozero (15).

« È chiaro, egli dice, che siccome la coagulazione avviene anche nei preparati microscopici di sangue ed ha luogo pochi minuti dopo l'estrazione del sangue stesso, che è appunto in questo periodo che dovrebbe aver luogo la distruzione dei leucociti, sicchè dovrebbe esser facile, tenendo l'occhio al microscopio, di vederla effettivamente succedere. Invece ognuno può facilmente persuadersi ch'essa non ha luogo ».

Dello stesso parere sono l'Hayem (16) ed il Lacker (17), i quali affermano concordemente di non aver mai potuto in nessun modo constatare la distruzione dei leucociti.

Più tardi il Salvioli (18) riprese lo studio particolareggiato della questione. Orbene non fu mai possibile a questo autore scorgere sotto il microscopio, in un saggio di sangue, qualche leucocito, o che si disfacesse, o si alterasse tanto nella forma e nell'aspetto, da far ammettere una sua distruzione. Di più stabilendo il numero dei leucociti in un saggio di sangue coagulato, e confrontandolo con quello di un altro sangue mantenuto liquido per mezzo del fissatore, trovò che i leucociti si trovano, può dirsi, nella stessa quantità nell'uno e nell'altro sangue. Inoltre mediante l'osservazione diretta microscopica, trovò infondata l'ipotesi di Rauschenbach, che alcuni leucociti cioè, mentre passano a traverso la ferita del vaso, o subito dopo, vadano incontro ad una rapida esplosiva distruzione.

Ed anche in un recente lavoro di Cardile (19) si viene alla conclusione che i leucociti, a differenza di quanto molti hanno ammesso, non vanno considerati quali elementi fragili, ma bensì quali elementi dotati di una notevole resistenza.

Le minute ricerche di Bizzozero sul terzo elemento morfologico del sangue (15), nel mentre ne posero in chiaro la reale esistenza, ci fecero ancora conoscere la capitale importanza che hanno le piastrine nella trombosi e nella coagulazione. Questi elementi considerati come identici agli ematoblasti descritti da Hayem, sòno di un'estrema delicatezza, e basta una piccola lesione della parete vasale, od il contatto con un corpo straniero, perchè essi diventino vischiosi e si applichino l'uno all'altro in grandi ammassi.

Nel sangue estratto le piastrine alterandosi producono una sostanza, che agendo sul substrato della coagulazione, dà luogo alla precipitazione della fibrina, per cui Bizzozero fu portato a concludere dalle sue numerose esperienze, che la parte principale nella coagulazione del sangue, spetta non ai globuli bianchi, ma alle piastrine.

Estendendo poi il suo studio al sangue degli animali a globuli rossi nucleati, quali gli uccelli, i rettili, anfibi e pesci, trovò in questi degli elementi, che per i caratteri che presentano, e cioè la facile alterabilità del protoplasma, la loro importanza nella trombosi (trombo bianco), la loro influenza sulla coagulazione, devono essere interpretate come piastrine, e propose di chiamarle piastrine nucleate degli animali a globuli rossi nucleati.

L'importanza delle piastrine nella formazione del trombo e nella coagulazione del sangue ebbe in seguito conferma dagli studî di Hayem stesso, di Lubnitzki, Eberth e Schimmelbusch, I. Salvioli (20), Löwit, Castellino (21), Mosen ed altri.

Alle ripetute opposizioni di Löwit, secondo il quale le piastrine non sarebbero elementi normali del sangue, ma comparirebbero in determinate circostanze, per precipitazione di globuline in forma di piastrine, può dirsi abbiano risposto vittoriosamente le nuove ricerche del Bizzozero, come quelle di Wlassow (22), secondo il quale le piastrine deriverebbero dai corpuscoli rossi in via di disfacimento, furono già attaccate e respinte da Scherer (23) e da Sacerdotti (24 bis).

Per le numerose ricerche degli autori prima ricordati e per quelle ancora di Fano (8), Lawdowski, Fusari, Laker, Mondino, Mondino e Sala, Sacerdotti (24), Castellino, Petrone (25), Acquisto (26), Mosen ed altri, possiamo ritenere essere l'esistenza del terzo elemento morfologico del sangue, un fatto reale, anzichè come vorrebbero parecchi altri autori, un prodotto derivante dal disfacimento dei leucociti o dalle emazie (Schmidt, Lilienfeld, Mosso (27), Wlassow (22) ed altri).

Dei lavori di cui ci siamo finora occupati, o abbiamo solo ricordato, noi riteniamo come più importanti e meglio dimostrati i seguenti fatti fondamentali:

1° deve ammettersi come necessaria, perchè la coagulazione avvenga, la presenza di un fermento;

2° non esistono prove sufficienti per ritenere che detto fermento venga fornito di preferenza dai leucociti, e nel processo della coagulazione essi non vanno distrutti con quella facilità da altri voluta ammettere;

3° esistono però nel sangue altri elementi molto labili, le piastrine;

4° può ritenersi dimostrata la loro capitale importanza nella formazione del trombo bianco, e nel processo della coagulazione;

5° anche le piastrine nucleate degli uccelli e dei rettili hanno un comportamento, nella coagulazione e nella trombosi, del tutto simile a quello delle piastrine dei mammiferi.

Ripetendomi ora la domanda che mi sono prima rivolta, perchè cioè il sangue che viene in contatto dei tessuti coaguli molto prima, di quello che non subisce questo contatto, io credo che sulla base delle ricerche già da altri compiute, e delle osservazioni da me esposte, il fatto vada interpretato nel modo seguente.

Estraendo del sangue con le cautele descritte nella tecnica, io vengo ad evitare al sangue stesso una serie di fattori capaci di profondamente alterarlo. Vorrei quasi dire, che, in tal

modo vengo a far risentire meno grandi, e quindi meno dannose le differenze che esistono tra le condizioni di ambiente in cui si trovava il sangue prima, il torrente circolatorio, e le nuove, il tubo d'assaggio.

Infatti l'impedito ingresso nei tubi di corpi stranieri, là perfetta pulizia delle pareti, l'assenza completa di acqua (Mosso (27), Maurel (29)), l'essere stati i tubi sottoposti all'azione del calore (Foà e Pellacani (13), Dastre e Floresco (28)), sono tutte condizioni che, se trascurate, avrebbero favorito un più rapido insorgere del processo della coagulazione.

Mancando invece l'azione nociva di tutti questi fattori, il sangue poteva per un tempo più lungo conservare un aspetto simile a quello che esso ha nelle condizioni normali di vita, finchè cominciando ad agire l'assenza di quei molteplici processi che fanno parte del ricambio materiale del sangue, esso gradatamente, progressivamente, si alterava, creando così le condizioni necessarie e sufficienti a determinare la coagulazione.

Ma mi si potrebbe osservare che nelle stesse favorevoli condizioni di ambiente veniva parimente a trovarsi il sangue che era passato sulla ferita, e tuttavia questo coagulava con una sorprendente celerità.

Orbene, in tal caso deve ricordarsi che il sangue era obbligato a scorrere su tessuti a superficie irregolare, su tessuti che avevano sofferto il contatto dell'aria per un tempo più o meno lungo, che erano stati durante la preparazione stirati, dilacerati in parte, che erano quindi modificati nella loro vitalità.

Da questi tessuti inoltre, per quanto scarsa, era fuoriuscita ed aveva potuto ivi alterarsi, una certa quantità di elementi morfologici ed una certa quantità di plasma.

Ora, per quanto si possa credere che le dette supposte alterazioni non debbano essere di grado notevole, non possiamo però escludere che anche piccole modificazioni, purchè prodotte in quel dato senso, non possano produrre gli effetti che ci erano dati di constatare.

Io intendo di dire insomma, che nel caso da ultimo considerato (diretto contatto del sangue coi tessuti), il sangue viene a trovarsi dinanzi a cause capaci di far sentire un'azione dannosa su tutti i componenti del sangue.

La ragione dunque per cui il sangue si mantiene più lungamente liquido nei saggi della prima serie sta in ciò, che io sopprimo nel primo caso l'azione di alcuni dei fattori capaci, per vario meccanismo, di alterarlo prontamente, mentre nel secondo caso lascio che altri fattori abbiano campo di far risentire su di esso la loro azione dannosa.

L'effetto dell'azione dannosa del contatto diretto del sangue coi tessuti, senza voler punto escludere od affermare ch'essa si possa far risentire contemporaneamente sui componenti morfologici del sangue, e sui non morfologici, in un modo che sfuggì alla mia indagine, io la potei bene apprezzare, nel caso concreto, sulle piastrine, perchè le vidi alterarsi, diminuire di numero.

Tutti gli autori, può dirsi, sono d'accordo nel ritenere che gli elementi morfologici del sangue hanno una grande importanza nel processo della coagulazione.

Fra l'altro io (1) ho rilevato come nel sangue di uccello, il quale per l'iniezione endovenosa di peptone è reso incoagulabile, o molto lentamente ed in modo speciale coagulabile, tutti gli elementi morfologici del sangue si conservino bene e lungamente (per più giorni) e come l'intervento di un coagulo, se coagulo lo si può chiamare, coincida appunto coll'alterarsi e col diminuire del numero delle piastrine.

Nel caso in cui il sangue fuoriuscendo dai vasi viene in contatto dei tessuti, donde gli deriva il fermento che si suppone essere necessario per il processo della coagulazione?

Io posso credere che una parte gli derivi dagli elementi dei tessuti coi quali viene in contatto, ma è certo che se fermento si sviluppa da elementi che si alterano, una notevole quantità deve al sangue provenire dalle piastrine, danneggiate come appunto vedemmo, dal contatto con tessuti non più in condizioni normali di vita.

Nel mentre nel caso in cui il sangue viene preso dal torrente circolatorio esso coagulerebbe di preferenza, perchè il sangue tolto dal proprio ambiente naturale, andrebbe incontro, dopo un certo tempo, a speciali modificazioni, di cui quelle che colpiscono le piastrine potrebbero essere l'origine principale del fermento necessario alla coagulazione.

I fatti che io ho sopra descritti e considerati devono, io spero, aggiungere un nuovo contributo a sostegno specialmente di una delle teorie più fondate sul processo della coagulazione, ma io sono ben lontano dal supporre che tutto il fermento-fibrina debba totalmente originarsi dalle piastrine, e dall'escludere che anche gli altri elementi vi prendano, o vi possano, in speciali circostanze ed in modi diversi, prendere parte.

Voglio con questo riferirmi, oltre alle numerose osservazioni fatte da Schmidt e suoi allievi, all' ipotesi di Mantegazza (30), il quale prima di ogni altro, attribuì parte importante nella coagulazione ai globuli bianchi, i quali vi parteciperebbero senza distruggersi, ma emettendo una sostanza sciolta, che precipiterebbe unendosi ad altri materiali del sangue.

Come pure mi riferisco alle osservazioni di Hoppe-Seyler, Heinyus, Landois, Mosso, secondo i quali i corpuscoli rossi prendono una parte importante nel processo della coagulazione.

Landois (31) infatti potè osservare derivare dalla fibrina anche dallo stroma dei corpuscoli rossi, per cui sarebbe da distinguersi, secondo l'A., per la loro origine, due specie di fibrina, fibrina dello stroma e fibrina del plasma. Nel primo caso, il fermento necessario sarebbe fornito dallo stroma dei corpuscoli rossi in via di disfacimento.

Come pure A. Mosso (27), in numerose ricerche, descrisse svariate modificazioni dei corpuscoli rossi, dal cui alterarsi o distruggersi dipenderebbe la formazione del coagulo.

In questo mio lavoro, pur tenendo calcolo delle altrui osservazioni, ho esposte le alterazioni che io ho osservate in

determinate condizioni di esperimento. Esse alterazioni, come dicemmo, riguardano quasi esclusivamente le piastrine, ma il processo della coagulazione del sangue appare troppo complesso, e troppo poco ancora conosciamo, perchè io possa stimare che la sola alterazione e distruzione delle piastrine, sia l'unica causa capace di indurre tutte le modificazioni che accompagnano il processo della coagulazione del sangue.

Io credo di aver soltanto aggiunto dei fatti, i quali comprovino un'altra volta la importanza delle piastrine nel processo della coagulazione, e per l'identità del comportamento delle piastrine dei mammiferi e di quelle degli uccelli, durante il processo della coagulazione, di aver offerto un nuovo contributo a dimostrazione della loro corrispondenza biologica negli uni e negli altri animali.

Riassumendo ora i risultati principali di queste ricerche si può ritenere quanto segue:

I. *Se il sangue di un animale, mammifero od uccello, viene raccolto direttamente dal torrente circolatorio (arterioso o venoso), esso impiega a coagulare un tempo molto più lungo, del caso in cui prima di esser raccolto viene in contatto diretto dei tessuti dell'animale;*

II. *Allorquando il sangue viene raccolto in condizioni che permettano una lenta coagulazione (senza il contatto coi tessuti), in questi casi manca la retrazione del coagulo.*

Questo fatto si verifica costantemente negli uccelli, fra i mammiferi, spesso nel coniglio.

Negli uccelli il coagulo si mostra diviso in due porzioni ben distinte, l'una superiore o plasmatica, l'altra inferiore o corpuscolare;

III. *La coagulazione resta affrettata se nei tubi, nei quali è preso il sangue, si introducono, a seconda dei casi, piccole porzioni di muscolo appartenenti all'animale, se le pareti dei tubi vengono con le stesse solamente stroffinate, lordate con sangue, umettate con acqua;*

IV. *Quanto più rapidamente la coagulazione si compie, tanto più presto avviene la retrazione del coagulo e con ciò la separazione di siero;*

V. *Nel sangue, sia di mammifero, che di uccello, estratto senza venire in contatto della ferita, si verifica, dopo la estrazione, un'alterazione sempre più manifesta delle piastrine ed una diminuzione progressiva del loro numero;*

VI. *Coll'avvicinarsi del momento della coagulazione anche i globuli rossi ed i leucociti presentano una tendenza sempre più spiccata a disporsi in accumoli;*

VII. *Nel sangue che viene in contatto coi tessuti si verificano in modo rapidissimo quelle stesse modificazioni di disposizione degli elementi e quelle stesse alterazioni di forma delle piastrine che si producono in modo lento e graduale nel sangue che non è venuto in contatto coi tessuti;*

VIII. *Non è apprezzabile dopo l'estrazione, nè una diminuzione di numero, nè un'alterazione morfologica dei leucociti.*

Mi è gradito e doveroso qui ringraziare il mio Maestro Professore Salvioli, per l'autorevole consiglio prestatomi in queste ricerche.

BIBLIOGRAFIA

1. Spangaro, *Atti R. Istituto Veneto di scienze*, t. LVIII, 1898-99. — *Lo Sperimentale*, anno LIV.
2. Delezenne, *Arch. de physiol. norm. et pathol.*, 1897. — Ibid., 1897.
3. Freund, *Viener med. Blätter*, p. 596, 1886.
4. Barrier, cit. da Hayem nella sua opera « Du Sang ». V. Hayem, n. 16.
5. Hayem, *Compt. r. h. de la Soc. de Biol.*, p. 894, 1896.
6. I. Salvioli, *Arch. per le Scienze med.*, vol. XII, n. 2.
7. E. Cavazzani, *Arch. ital. de Biol.*, t. XXVII, 1897.
8. Fano, *Arch. per le Scienze med.*, vol. V, 1882, p. 393.
9. Arthus et Pagès, *Arch. de physiol. norm. et path.*, n. 2, p. 739, 1890.
10. Pekelharing, *Deutsche med. Woch.*, 1892, p. 1133.
11. Lilienfeld, *Archiv f. Anat. u. Phys.*, Phys. Abteil., 1892, p. 115. — *Zeitschrift f. phys. Chemie*, Bd. XX, 1895, p. 89.
12. Lilienfeld e Monti, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, Bd. XVII, 1893.
13. Foà e Pellacani, *Rivista clinica di Bologna*, 1880. — *Arch. per le scienze med.*, vol. VII, p. 113.
15. Bizzozero, « Di un nuovo elemento morfologico del sangue e della sua importanza nella trombosi e nella coagulazione », Milano, Vallardi, 1884. — *Arch. per le scienze med.*, vol. XV, n. 27.
16. Hayem, « Du Sang », Paris, C. Masson ed., 1889, p. 288.
17. Laker, *Wiener Sitzber.*, Bd. 86, T. III, 1892.
18. I. Salvioli, *Arch. per le scienze med.*, vol. XIX. Letteratura sull'argomento.
19. Cardile, *Arch. per le scienze med.*, vol. XXII, p. 435.
20. I. Salvioli, *Arch. per le scienze med.*, vol. XV, p. 157.
21. Castellino, *Arch. ital. di clin. med.*, n. 3, 1894.
22. Wlassow, *Beiträge v. Ziegler*, XV, 1894.
23. Scherer, *Arch. f. Heilkunde*, Bd. 17, 1896.
24. Sacerdotti, *Arch. per le scienze med.*, vol. XVII, n. 2, 1892. Letteratura sull'argomento.

24bis. Sacerdotti, *Giorn. R. Accad. medica di Torino*, 1900, n. 1.

25. Petrone, *Riforma medica*, anno XI, vol. I, 1895. — *Il Morgagni*, n. 5-6, 1897.
26. Acquisto, *Atti XI Congresso internaz.*, vol. II. — *Arch. per le scienze med.*, vol. XIX, p. 208.
27. Mosso, *Rend. Acc. Lincei*, 1887, p. 315.
28. Dastre et Floresco, *Comp. rend. hebd. de la Soc. de Biologie*, n. 32, 1896.
29. Maurel, *Comp. rend. hebd. de la Soc. de Biol.*, n. 29, p. 910, 1898.
30. Mantegazza, *Gazzetta med. lombarda*, 1869.
31. Landois, « Trattato di Fisiologia dell'uomo ». Trad. ital., p. 59.

RIVISTA BIBLIOGRAFICA

A. Montuori. — *L'eliminazione dell'acido urico durante l'alimentazione con nucleina artificiale.* (Estratto dai *Rend. della R. Accad. delle scienze fisiche e matematiche di Napoli*, fasc. 2°-3°, febbraio-marzo, 1899).

Liebermann ammise che le nucleine altro non siano che combinazioni dell'albumina ordinaria coll'acido metafosforico. Kossel, fondandosi sul fatto che la nucleina artificiale, ottenuta da Liebermann, non fornisce come quella naturale delle basi xantiniche, negò l'identità fra le due nucleine, fra quella cioè che si ha dagli organi animali e quella che si può ottenere artificialmente combinando l'ovo-albumina coll'acido metafosforico.

L'A. alimentò alcuni cani con nucleina naturale ed altri con nucleina artificiale, e vide che nell'alimentazione con nucleine artificiali non si produce, come accade invece in quella con nucleine naturali, un aumento nella eliminazione d'acido urico.

Conclude perciò che fra le due nucleine debbono esistere notevoli differenze e che l'aumento di formazione di acido urico in rapporto coll'alimentazione di nucleine artificiali deve dipendere da corpi xantinici derivanti dallo sdoppiamento delle medesime. BENEDICENTI.

Arnoldo Caselli. — *Untersuchungen über die reflex hemmende Function des oberen Schlundganglion der Languste.* (*Pflüger's Archiv f. ges. Phys.*, vol. 74, 1899).

L'A. dimostra che il ganglio esofageo superiore nel *Palinurus vulgaris* (Langusta) funziona come centro di inibizione pei movimenti della coda. I risultati ottenuti dall'A. trovano riscontro con quelli ottenuti da Albertoni nelle sue esperienze sulle tartarughe. BENEDICENTI.

A. Montuori. — *Sulla trasformazione dei grassi in zucchero nel fegato.* (Estr. dai *Rend. R. Accad. Scienze fisiche e matematiche di Napoli*, fasc. 2°-3°, febbr. e marzo 1899).

L'A. ha voluto verificare se, conformemente alle conclusioni di Seegen, confermate da Weiss, lo zucchero che si forma normalmente nel fegato isolato aumentasse con l'aggiunta di grassi e se, in caso affermativo, i grassi aggiunti venissero consumati dal fegato.

Egli eseguì alcune prove *in vitro* con miscugli di pezzetti di fegato e sangue defibrinato cui aggiungeva o no olio di amandorle dolci. Le esperienze durarono 5-6 ore: la determinazione dello zucchero nei miscugli non fece rilevare differenze apprezzabili.

Un'esperienza eseguita sull'animale vivo confermerebbe questo risultato.

BENEDICENTI.

B. Morpurgo. — *Di una forma infettiva di osteomalacia nei ratti albini.* (*Atti della R. Accad. dei Fisiocritici*, serie IV, vol. XII).

L'origine dell'osteomalacia in genere è sempre stata oggetto di molte discussioni, e ancora oggidì accanto ad ipotesi chimiche o infettive, ve ne sono altre che fanno dipendere questa affezione da disturbi circolatorî o da alterazioni nervose, senza però che vi siano dei fatti assolutamente decisivi per farci accettare più tosto una che l'altra opinione. Riesce per ciò altrettanto più interessante lo studio fatto dal Morpurgo sopra una particolare malattia, con speciale localizzazione nelle ossa, osservata spontanea nei ratti albini del suo Laboratorio, la quale, per molti caratteri, deve essere ascritta all'osteomalacia, e che è possibile riprodurre negli animali della stessa specie. — I caratteri anatomici più salienti che l'A. rilevò all'autopsia degli animali siffattamente malati, oltre ad un forte dimagramento generale, erano: incurvature e deviazioni della colonna vertebrale, mollezza delle coste e delle vertebre e delle ossa lunghe, in ispecie delle tibie e delle fibule sempre molto deformate. E l'esame microscopico dimostrò che la sostanza compatta dell'osso è ridotta a rade trabecole e a cercini ossei, attraversati da ampie lacune e guerniti da bordi e da zone osteoidi; dimostrò pure la presenza di numerose *Gitterfiguren*, identiche a quelle descritte nelle ossa malaciche dell'uomo. Ancora è da notare che le lacune che attraversano l'osso sono occupate da connettivo più o meno compatto, ricco di cellule e di vasi sanguigni a pareti sottili, e contenente qua e là delle cellule cariche di pigmento nero, e zolle libere di pigmento. Continuando le sue ricerche, l'A. ha potuto mettere in evidenza due altri fatti di notevolissima importanza, da un lato cioè, la presenza nel midollo spinale di diplococchi, resistenti al metodo di Gram e ben coltivabili e capaci, quando venivano inoculati in animali sani, di riprodurre completamente il quadro dell'affezione in discorso, d'altro lato delle lesioni assai diffuse, particolarmente delle cellule nervose, nel segmento lombare del midollo spinale. Mentre però, come si disse, l'inoculazione di coltura del diplococco isolato ebbe sempre risultato positivo nei ratti albini, essa fu invece senza effetto nelle cavie, nei conigli, e nei topolini bianchi.

Riassumendo, alla fine del lavoro, i dati raccolti, l'A. insiste sul fatto che il tessuto che sostituisce l'osso scomparso e che più tardi ne formerà del nuovo, non è midollo, ma è connettivo da prima mucoso e poi schiettamente fibroso; e, in base a questa e ad altre considerazioni, conclude che la malattia da lui descritta dovrebbe ritenersi come un termine intermedio fra l'osteomalacia e la ostite fibrosa. Riguardo poi alla patogenesi di essa, l'esame dei casi osservati, darebbe una particolare importanza a disturbi circolatorî (iperemia locale, accompagnata da frequenti

emorragie), dovuti forse ad un'abnorme innervazione dei vasi, dipendenti dalle lesioni rilevate nel midollo spinale, le quali alla loro volta erano dovute all'azione del particolare microrganismo isolato dall'A.

D. Ottolenghi.

E. Veratti. — *Ricerche sul sistema nervoso dei Limax.* (*Memorie del R. Ist. lomb. di Scienze e Lettere.* Classe di Scienze matem. e nat., vol. IX, 1900).

L'A. pubblica i risultati delle sue ricerche sul sistema nervoso dei Limax, il quale è stato, fino a questi ultimi tempi, assai poco studiato. Egli si è valso prevalentemente del metodo di Golgi, e anche dei metodi istologici comuni: ha avuto pure qualche profitto, benchè scarso, dai metodi all'azzurro di metilene. Gli studî furono rivolti all'esame del sistema nervoso centrale e periferico, all'innervazione del tubo digerente e dei tentacoli. Per ciò che riguarda il sistema nervoso centrale, ha potuto mettere in evidenza nei gangli due tipi di cellule nervose, un tipo provveduto di prolungamento che esce dal ganglio, un altro tipo con prolungamento che si esaurisce intieramente nella *punktsubstanz* di Leydig, la quale, come è noto, occupa la porzione centrale dei gangli, e che, mentre con gli ordinarî metodi di colorazione appare finamente granulosa e sparsa di pochi nuclei piccoli, col metodo di Golgi invece si rivela costituita di un complicatissimo intreccio di filamenti nervosi. L'A. inoltre, contrariamente a ciò che era stato ammesso da altri, ha riscontrato che tra la porzione corticale e la midollare (*punktsubstanz*) dei gangli, non esiste punto una netta distinzione, bensì vi sono degli intimi e complicati rapporti, dimostrati dall'esistenza di plessi nervosi pericellulari che, provenendo dal reticolo della *punktsubstanz*, vanno ad applicarsi strettamente alla superficie delle cellule nervose che si trovano nella porzione corticale dei gangli nervosi. Riguardo all'innervazione della cute, l'A. ha messo in evidenza delle cellule nervose di varia forma, le così dette *sinneszellen*, le quali si possono distinguere prevalentemente in questi due tipi: 1° cellule con corpo tondeggiante od ovale, con un prolungamento periferico che, raggiunto l'epitelio di rivestimento, riesce alla superficie del corpo, e con un prolungamento centrale che riesce a dei fasci nervosi; 2° cellule come le precedenti, ma con due o più prolungamenti periferici, o con uno solo che si divide in più rami che vanno a raggiungere la superficie della cute. Oltre a ciò esiste nella cute un plesso nervoso intraepiteliale. Per ciò che tocca il tubo digerente l'A. completa le osservazioni di Retzius, di Paravicini e di Smidt: così anch'egli ha riscontrato un ricchissimo intreccio di fibre nervose nei muscoli della faringe, e in rapporto con esse anche numerose cellule nervose. Nella superficie libera del canale digerente, ha constatato l'esistenza di un complicato plesso nervoso intraepiteliale e degli elementi simili alle *sinneszellen* della cute, i prolungamenti periferici di alcune delle quali, giunti alla superficie profonda della cuticola che riveste il canale, vide che ingrossano leggermente ed emettono una serie di sottili filamenti disposti a ventaglio. L'A. infine ha dimostrato la presenza di un plesso nervoso intorno al globo oculare, dal quale partono le fibrille terminali destinate a mettersi in rapporto con l'epitelio visivo.

D. Ottolenghi.

G. Vicarelli. — *Terapia ostetrica d'urgenza.* — Torino, Unione Tipografico-editrice, 1899.

Questo libretto del Vicarelli è un'opera utile e molto ben fatta. In essa sono succintamente svolte tutte le misure terapeutiche ostetriche, e l'esposizione è opportunamente intercalata di quadri sinottici. Alla parte che strettamente corrisponde al titolo dell'opera è aggiunta un'appendice nella quale sono raccolti i più necessarî ricordi di anatomia, fisiologia e propedeutica ostetrica, le principali norme sul trattamento del neonato e sull'allattamento e le più importanti disposizioni legislative in rapporto coll'esercizio ostetrico. In tal modo il medico pratico ha in questo libro un prezioso *vade-mecum*. SACERDOTTI.

P. Guizzetti. — *Per l'Anatomia patologica della paralisi di Landry.* (*Rivista sperimentale di Freniatria*, vol. XXV, fasc. III).

Dopo aver accennato alla letteratura esistente sull'argomento, l'A. espone due casi di paralisi di Landry, da lui seguiti nel decorso clinico, e studiati poi diligentemente coi sussidii dell'anatomia patologica.

Dal punto di vista eziologico, basandosi anche sul reperto anatomo-patologico, ammette che la malattia in discorso sia di regola, forse sempre, la conseguenza di un'infezione. L'A. distingue poi due classi di paralisi di Landry: una *direttamente parassitaria*; l'altra *tossico-infettiva*, determinata cioè dall'azione di sostanze tossiche preparate da germi che hanno la loro sede al di fuori del sistema nervoso. Nel primo caso le lesioni anatomiche hanno fondamentalmente l'aspetto infiammatorio, e si riferiscono più frequentemente al midollo spinale, come forme incomplete di mielite, o di meninge-mielite; nella forma tossico-infettiva le alterazioni sono prevalentemente, o quasi esclusivamente degenerative, diffuse, e si iniziano nelle parti più delicate dell'elemento nervoso.

I due casi descritti dall'A. appartengono l'uno alla prima, l'altro alla seconda forma, benchè in entrambi il reperto batteriologico sia riuscito negativo. Egli dà ragione di questo fatto considerando come, nel primo caso, essendo il soggetto venuto a morte per fatti polmonari, mentre le le lesioni della paralisi erano già antiche, e in via di riparazione, si possa ragionevolmente pensare che i microrganismi fossero scomparsi; perciò, anzi, per iscoprire i germi nei casi di paralisi di Landry, specie a sintomi spinali, egli consiglia di ricorrere per tempo alla puntura lombare. Nel secondo caso esisteva un' aortite ulcerosa circoscritta; esistevano inoltre infiltrazioni linfoidee in alcune radici spinali, in qualche vaso bulbare, in alcuni nervi; tali lesioni, secondo l'A., sono da riferirsi indubbiamente ad un processo infettivo. Egli ammette che, anche in questo caso, al momento della morte, i germi fossero già scomparsi; e ricorda che appunto le paralisi tossico-infettive, come ad es. quelle susseguenti alla difterite e alla febbre tifoide, si manifestano nella maggior parte dei casi tardivamente, quando l'agente infettivo è già scomparso, o sta per iscomparire.

FRATTIN.

G. BIZZOZERO, *Direttore Responsabile.*

Torino. — Tipografia VINCENZO BONA.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 12.

Istituto dermo sifilopatico della R. Università di Padova,
diretto dal Prof. A. Breda.

RICERCHE ISTOLOGICHE

SULL'EPITELIO E SULLE PARACHERATOSI

DELL'AMNIOS UMANO

PEL

Dott. **Gino MIGLIORINI**
Assistente.

(Tav. IV)

PARTE I.

Nella descrizione istologica dell'epitelio amniotico si può dire che non si trovano due, fra i molti ricercatori, che sieno completamente d'accordo. Ciò forse è dovuto al fatto che furon tratte conclusioni da studi compiuti sopra una o poche membrane, sicchè quel polimorfismo, che, come vedremo, può raggiungere in quest'epitelio proporzioni notevoli, condusse a pareri contrari; a non dire che taluno forse credette si potesse ripetere a proposito dell'epitelio umano quello che si nota nell'epitelio amniotico d'animali inferiori, ad esp. della cavia.

Le mie ricerche furon compiute tutte su membrane fissate o no appena espulse dall'utero, quindi assolutamente fresche.

Noto che l'epitelio rivestente il cordone, quello ricoprente il tratto d'amnios che è in contatto colla placenta e l'altro che ne tapezza la parte rimanente, lo dirò, per brevità: epitelio del cordone, iuxta ed extra placentare.

L'epitelio amniotico alla fine del 9° mese non si presenta ovunque dello stesso tipo; ma questo varia a seconda della porzione. Nell'extraplacentare è cubico, non piatto, come dicono Kölliker e Viti (1); infatti esso misura, secondo quest'ultimo autore, μ 11 in altezza per 19 di larghezza, o, secondo il Colpi (2) μ 15 × 12 =. Quello iuxta placentare misura in media μ 20 × 9 (Colpi); esso è quindi un epitelio cilindrico (A. Hotz (3) T. Ferrari (4)): tuttavia si trovano anche in questa porzione cellule cubiche e talora molto basse, ma esse non sono quelle che prevalgono. Dalle mie ricerche, per le quali mi servii di circa una ventina di membrane del 9° m., risulta che il tipo cilindrico nella parte iuxta placentare va considerato come normale. L'altezza sua però è soggetta ad ampie variazioni; in una stessa membrana od in membrane diverse si possono veder zone di cellule alte anche 2-6 volte più delle altre, offrenti quindi uno dei più belli esempi d'epitelio cilindrico.

Sul cordone l'epitelio è normalmente piatto; ma in alcuni punti è frequente il notare delle cellule. cubiche.

Mentre l'epitelio iuxta ed extraplacentare è costantemente disposto in un solo strato, quello del cordone è, nel tratto più prossimo alla placenta, bene spesso stratificato (A. Hotz); più in su esso è, d'ordinario, ad un solo ordine di cellule talora embricantesi.

La diversa altezza dell'epitelio fu dal Vignolo (5) attribuita all'accorciamento che avviene nella lamina connettiva sottostante dopo accaduta la rottura delle membrane ed il secondamento. Ma il T. Ferrari fece osservare (6) che la membrana connettiva, la *tendinea* è pressochè anelastica, e che la sua coartazione non ha influenza apprezzabile nel modificare l'altezza delle cellule. Di più io notai che questa diversità di tipo si mantiene anche nell'epitelio allontanato freschissimo, a mezzo del raschiamento, della sottostante *tendinea*; anche quando cioè è stata soppressa la supposta causa.

Inoltre in uno stesso campo microscopico, specie nella parte iuxtaplacentare, noi possiamo osservare delle cellule cubiche

ed anche quasi piatte, accanto ad altre cilindriche alte: si ha in tali casi una varietà, un polimorfismo che non si saprebbe come spiegare se si facesse dipendere l'altezza dell'epitelio dalla retrazione della tendinea.

Il Colpi invece, accettando un altro concetto del Vignolo, fa dipendere il diverso tipo dal grado diverso di tensione cui soggiace la membrana, a seconda che essa è aderente o no ai tessuti sottostanti. L'epitelio iuxtaplacentare sarebbe per questo A. più alto dell'extraplacentare pel motivo che quel tratto di membrana è, a differenza di questo, aderente al tessuto sottoposto, cioè alla placenta. Ma innanzi tutto va notato che questa aderenza, di norma, non esiste: di ciò mi sono persuaso in una lunga serie di ricerche (7), eseguite sotto la guida di T. Ferrari. L'amnios può, più o meno ampiamente, scorrere sul chorion tenue e sulla placenta fino all'inserzione del cordone (al quale invece è costantemente aderente) in grazia del « tessuto intermediario » che agisce come cuscinetto di scivolamento.

Sta poi il fatto che l'epitelio è altissimo anche in casi nei quali la sostanza mucosa posta tra amnios e placenta è abnormemente copiosa; sicchè in tali casi di aderenza si può parlare ancor meno. Inoltre, se l'opinione del Colpi fosse esatta, l'epitelio del cordone dovrebbe essere cilindrico, anzi cilindrico alto, poichè l'adesione della membrana è per tutto questo tratto solidissima; invece esso è piatto.

Se adunque, nè dalla retrazione, nè dalla aderenza della membrana si può far dipendere la diversità di tipo dell'epitelio amniotico negli ultimi mesi, bisogna dire che essa sia dovuta ad altre cause che ci sfuggono e che fanno risentire la loro influenza specialmente negli ultimi mesi, poichè nei primi, a quanto si afferma, l'epitelio è pianeggiante tanto nella parte extra che nella iuxtaplacentare.

Tale polimorfismo fra cellule epiteliali aventi la stessa origine embriologica ed apparentemente anche lo stesso ufficio fisiologico non deve meravigliare: fatti simili non mancano anche in altri organi, e vedremo poi con quale facilità si pos-

sono sorprendere dei veri mutamenti di tipo nelle cellule epiteliali dell'amnios.

Nella parte extraplacentare le cellule han forma molto regolare, invece nell'iuxtaplacentare gli elementi sono piuttosto dissimili fra loro. Nelle sezioni, poichè non tutti hanno la stessa altezza, accade spesso di vedere che la parte libera d'una cellula viene ricoperta, più o meno, da un'espansione a mo' di tetto fatto da una cellula vicina più alta. Esaminato quindi a piatto, l'epitelio iuxtaplacentare trattato con nitrato d'argento ci appare come un mosaico a pietruzze molto irregolari, quale ad esp. si vede nella figura 2, tav. III di Ahlfeld (8). Qua e là poi si trovano zolle di epitelio d'aspetto notevolmente diverso dal circostante, per essere gli elementi molto più ampi, piuttosto pianeggianti, ricchi di protoplasma (V. fig. 6); sicchè non fanno l'impressione di essere « fra loro pigiati; per la ristrettezza del campo su cui, troppo numerosi, giacciono » (Meola) (9); ma la contraria, come se tentassero ricoprire un' area maggiore di quella che potrebbero.

Sono queste probabilmente le cellule delle quali parla il Lange (10), che si vedono riprodotte nella fig. 2 del suo lavoro e nella 4ª (tav. III) del lavoro d' Ahlfeld (11).

L'epitelio del cordone si differenzia nettamente dagli altri, oltre che per l'altezza, per la maggiore espansione e per la regolarità della forma. Il Lange (10) ne dà una figura nella quale il polimorfismo cellulare è spiccatissimo; ma a dir il vero io cercai ripetutamente invano nell'epitelio normale un solo campo che ricordasse il disegno del Lange.

È tuttodì da stabilire se le cellule sieno fornite di « spine » poichè, mentre da alcuni (Hotz, Minot, Vignolo, Ferrari T.) questa particolarità è ammessa, da altri si parla invece di « contorni rettilinei presentanti alle volte delle scanellature (Meola); o di « spine ad ingranaggio » (Lange); ed infine non manca chi la neghi recisamente (Colpi).

Ci possiamo innanzi tutto persuadere della presenza di appendici spinose già col semplice metodo del nitrato d'argento; un aspetto più netto lo si ha trattando il tessuto con l'acido

osmico e colorando con tionina carbolica o, meglio ancora, con fucsina acida e montando in balsamo. Se poi raschiamo via un lembetto d'epitelio iuxtaplacentare fresco, lo facciamo aderire al porta-oggetti a mezzo del calore e poscia lo coloriamo ad esp. con violetto di genziana, vediamo come gli spazii infracellulari, divenuti assai ampi, in causa del notevole raggrinzamento prodotto nelle cellule dal calore, sieno attraversati da ciglia anche discretamente lunghe, dritte, rigide.

Solo nell'epitelio normale del cordone non mi riuscì il dimostrarle, contrariamente a quanto afferma T. Ferrari (4): le riscontrai invece anche in questa parte nel caso che gli elementi si stratifichino e vadano a costituire le « cornificazioni » o le « caruncole ».

Nei preparati colorati secondo il metodo Weigert per la fibrina, specie se ottenuti per raschiamento, possiamo seguire tutto il percorso di queste appendici spinose. Le vediamo simili alle ciglia degli epiteli epidermici; però non se ne notano di quelle unenti una cellula ad una lontana (« lunghe ciglia » di Ranvier); bensì, partendo da un elemento, van tutte a terminare nei circostanti, senza salti; il che si capisce pensando al modo diverso d'accrescimento, ed alla mancanza di quello spostamento dal basso all'alto che avviene nei varii strati dell'epitelio cutaneo.

Negli stessi preparati osservati a forte ingrandimento (fig. 2) il protoplasma presenta un aspetto fibrillare: si osservano cioè dei sottilissimi filamenti violetti i quali disegnano come una maglia nel protoplasma stesso. Ne risulta un aspetto che richiama alla mente la così detta « fibrillazione protoplasmatica degli epiteli », ma che se ne differenzia perchè i « filamenti », di volume ed a decorso irregolare, costituiscono delle maglie anche assai ampie, varie da cellula a cellula; mandano ramificazioni; inoltre si dimostrano in tutto il protoplasma, sicchè se ne vedono anche di arcuati, attorno al nucleo; mentre con lo stesso metodo di colorazione nelle cellule epidermiche io non riuscii che a vedere la fibrillazione giacente nello strato più esterno del protoplasma.

Ricevetti quindi l'impressione che in tal caso si trattasse non già della colorazione di «filamenti», differenziati per diversi caratteri dal rimanente protoplasma (Ranvier 12,13); ma della colorazione del reticolo protoplasmatico. Secondo Herxheimer (14) ciò sarebbe la stessa cosa, la «fibrillazione» non essendo per l'A. che la dimostrazione del «reticolo protoplasmatico modificato per azione dei fissatori»; ma questo argomento richiede ancora studi accurati.

Più che per la forma delle cellule e la presenza delle spine, vi è controversia fra i ricercatori intorno alla natura ed al significato di quelle formazioni che sono ormai note coi nomi di *granuli* e di *cellule vescicolose* o *vescicole*. Sarà quindi opportuno che io riassuma brevemente i loro pareri.

A. Hotz disse i «granuli» costituiti da sostanza grassa; al contrario il Lange li ritenne albuminoidei, poichè non ebbe risultati positivi del trattamento con acido osmico, ma trovò che si scioglievano invece con potassa caustica ed acido acetico. P. L. Ferrari (15) per contro negò la loro solubilità in potassa caustica, e li disse in parte grassi, perchè ottenne su essi la reazione osmica; in parte albuminoidei giacchè li vide sciogliersi coll'acido acetico.

Ad onta di ciò, non sono ancora tre anni che T. Ferrari e A. Colpi asserivano ancor ignota la natura di questi granuli, i quali da molti erano stati ritenuti un prodotto di degenerazione post-mortale o no, e da Lange un prodotto «artificiale».

Innanzi tutto confermo pienamente le ricerche di P. L. Ferrari riguardo alla loro presenza anche nelle membrane fissate immediatamente dopo la loro espulsione, e dopo un travaglio molto breve. Adunque non li possiamo credere prodotto cadaverico. Ma, poichè si potrebbero ritenere in qualche modo legati al travaglio ed al parto, così bisognava vedere se esistessero anche in membrane appartenenti a feti estratti, innanzi la loro maturità, per taglio cesareo.

A tal uopo, giacchè io non ebbi occasione d'esaminare di tali annessi umani, intrapresi alcune ricerche su quelli d'animali (cavie) uccisi durante la gravidanza.

Ebbene, di *granuli,* quantunque assai meno numerosi e molto più piccoli che non nelle cellule epiteliali amniotiche umane, ne trovai anche in quelle di cavia, oltre la metà della gravidanza.

Resta così provato che essi sono indipendenti da possibili modificazioni degli ultimi momenti della gravidanza; ed acquista perciò maggiore importanza il fatto che i « granuli » sono più o meno numerosi a seconda l'età della membrana.

Nell'amnios umano del 4° 1/2 m. ad esempio (esame d'una sola membrana) sono senza confronto meno abbondanti (fig. 3ª) che in quello del 6°, e così via: quanto più si avvicina alla fine del 9°, tanto più aumenta il loro numero. Mentre nella maggior parte delle membrane del 9° m. si può dire che ogni cellula ha *granuli*, vi sono altre membrane (rare) pure del 9° m. in cui abbondano invece le cellule che ne sono prive. In quella del 4° 1/2 m. poi il maggior numero delle cellule le vidi senza *granuli* di sorta.

Per mancanza di materiale non posso dire come si presentino gli epitelii in epoche anteriori al 4° 1/2 m.; non credo tuttavia si debba dare un valore assoluto a quanto afferma P. L. Ferrari in proposito, cioè che i granuli si trovano anche nelle cellule (in tutte?) del 1° m., poichè egli non dice se tali granuli li mise in evidenza con l'acido osmico, o col nitrato d'argento; sostanza questa che secondo l'A.; avrebbe la strana e da me punto confermata azione di provocare il *raggrinzamento* e la *migrazione* dei « granuli » alla periferia della cellula.

In seguito all'opportuno trattamento con soluzioni d'Ag2 No3, il protoplasma non presenta granuli di sorta, nè attorno al nucleo, nè alla periferia della cellula; invece, al loro posto esistono delle piccole aree rotondeggianti incolore, le quali con un successivo trattamento osmico, assumono una tinta bruna, precisamente come se non si fosse prima sottoposto il pezzo ad alcun trattamento. Io quindi non posso condividere le vedute di P. L. Ferrari; ritengo invece che i « granuli » restino indifferenti all'azione del nitrato d'argento, e che le

granulazioni irregolari, depositate alla periferia della cellula, rappresentanti, secondo Ferrari L., l'esito dei granuli migrati, sieno dei precipitati del sale d'Ag.

Nè la potassa caustica o l'acido acetico sciolgono questi granuli, i quali posson venire studiati assai bene fissando nella miscela osmio-picrica per 3-4 ore, colorando poi con una soluzione fenicata di tionina, ed esaminando (dopo il raschiamento) a piatto in glicerina od acqua.

In tal guisa molte cellule si mostrano ricche di granuli bleuverdastri, altre (porzione iuxtaplacentare) presentano delle granulazioni solo leggermente colorate alla loro periferia ed incolore al centro, o del tutto incolore, sicchè in luogo di granulazioni si direbbero goccioline o vacuoletti riempiti da sostanza acquosa; me se dopo il suaccennato trattamento, tingiamo il pezzetto con Sudan III°, queste goccioline non tinte dall'acido osmico contenuto nel fissatore, divengono rosso-aranciate ed in tal modo rivelano la loro natura grassa (Daddi 17).

Preparando in tale guisa diversi lembetti di tessuto, possiamo rilevare che esistono in cellule diverse o nella stessa cellula (fig. 6) dei « granuli » avidi di acido osmico e di Sudan III° (bruno-rossicci); degli altri tinti dal solo Sudan (rosso-aranciati) ed anche rarissimi altri piuttosto voluminosi che assumono soltanto una lieve tinta bruniccia.

Forse i pareri opposti di Hotz e di Lange trovano una spiegazione nelle mie osservazioni, le quali poi confermano una volta più l'insufficienza della reazione osmica per la diagnosi dei grassi.

Ma che i « granuli » dell'epitelio amniotico sieno costituiti di grasso, oltre che da quanto ho detto, risulta dal fatto che da circa 75 centigrammi d'epitelio fresco isolato col raschiamento e sottoposto all'azione dell'etere solforico, io ottenni, dopo decantazione ed evaporazione del liquido, due grosse gocciole d'un grasso lievemente giallastro, fondente a basso calore, d'odore acuto, ricordante un po' quello dell'estratto di liquerizia.

Nelle membrane del 9° m. i granuli hanno volume vario, ve ne sono di minimi e di grossissimi. Il loro numero è sempre notevole; ma io li vidi numerosissimi, a segno che la cellula appariva addirittura zeppa, in quelli elementi nei quali non si aveva più traccie di nucleo (V. fig. 6); mentre erano più piccoli e meno numerosi in certe cellule le quali per caratteri di forma, di situazione, e di colorazione del nucleo si potevano ritenere meno vecchie. T. Ferrari anzi afferma (4) che i granuli mancano del tutto nelle cellule giovani; ma io non posso dall'esame dei miei preparati portare su questo punto un contributo sicuro, essendocchè nell'epitelio umano normale degli ultimi mesi, se è vero che notai abbastanza spesso dei nuclei i quali per la proprietà di colorazione, si potevan ritenere in via di scissione, è altrettanto vero che non ne trovai alcuno nel quale la disposizione dei filamenti cromatici ricordasse quella dei vari stadii della cariocinesi, unica maniera di riproduzione delle cellule epiteliali amniotiche, secondo le ricerche di T. Ferrari e di Colpi.

Nell'epitelio di cavia però gli elementi con nucleo evidentemente in fase cariocinetica non presentano granuli grassi.

Proseguendo nell'esame dei preparati ottenuti raschiando l'epitelio di pezzi fissati nella miscela osmio-picrica e colorati con ematossilina-Bizzozero e Sudan III°, vediamo che le cellule a granuli *sudanofili* sono disposte come ad isolotti, che in generale sono le maggiori (fig. 6) cioè quelle pianeggianti che io ho ricordate più addietro. In molte di queste il nucleo è ben evidente, granuloso, in molte altre invece o non appare affatto, od è rappresentato da poche granulazioni ovalari o rotondeggianti tinte in bleu (V. fig. 6ᵃ), oppure anche in verdastro intenso dalla ematossilina; talora invece al suo posto si nota uno spazio rotondeggiante incoloro, privo di granuli.

Altrove, prevalentemente fra i gruppi di elementi a granulazioni *osmiofile*, ne vediamo alcuni piuttosto refrangenti, piccoli, disposti in zolle spesso lineari, molto ricchi di granuli grassi, i quali sogliono presentare il nucleo ridotto ad

un corpo irregolare, fortissimamente colorato in modo omogeneo dell'ematossilina e dagli altri colori nucleari.

In quasi tutte le membrane dell'8° e 9° mese poi si osservano dei gruppi lineari o grossolanamente stellati di cellule che nei preparati trattati con osmico o Sudan spiccano per la loro pallidezza; e, colorando col metodo Altmann-Ferrari (18) o con bleu policromatico, queste cellule si differenziano dalle vicine per una tinta giallognola o bluastra.

Raramente in seno al protoplasma si trovano degli spazietti rotondeggianti che rimangono costantemente incolori (fig. 6) e che rappresentano adunque uno stato idropico della cellula. Più o meno frequenti invece sono nella parte iuxtaplacentare quei vacuoli unici, raramente duplici, variamente ampi, entro ai quali si distingue un corpicciolo refrangente variamente grosso, od anche una sostanza amorfa; quei vacuoli insomma che sono noti col nome di « vescicole » (fig. 3 c) ed il cui contenuto fu da Hotz, Lange e Vignolo ritenuto mucina; mentre P. L. Ferrari, quantunque non escluda la possibilità che alcune vesciche siano a contenuto mucoso, propende a ritenerle con Pestalozza delle degenerazioni idropiche.

A tal punto si noti che mentre il Colpi identifica assolutamente i *granuli* e le *vescicole*, T. Ferrari crede che solo parte dei *granuli* sieno il punto di partenza delle *vescicole*, le quali poi rappresenterebbero uno stato idropico.

Prima di questi due AA. nessuno aveva pensato a ciò, A. Hotz infatti, ad esempio, aveva detto che si trattava di nuclei degenerati in mucina, Lange le riteneva invece espressione d'una metamorfosi mucinica di tutta la cellula.

Orbene, io non vidi mai queste vescicole intorbidarsi per ac. acetico, nè colorarsi con quelle sostanze che tingono il muco. Lo stesso si dica del corpicciolo contenuto nella « vescicola », quantunque Lange l'abbia detto « protoplasma non ancora sciolto in muco » e Vignolo « il prodotto della degenerazione mucosa della cellula ». Esso inoltre non si colora nè come il grasso, nè come il glicogene, nè come il nucleo.

Di granulazioni simili, variamente grosse, presentanti at-

torno un alone incoloro più o meno ampio, ne vediamo facilmente anche nell'epitelio di cavia ed in quello umano del 5° m. (v. fig. 3 *a, b*). Meglio che nei tagli, si dimostrano queste formazioni, le quali credo rappresentino le varie fasi della *vescicola*, fissando il pezzo nella miscela osmia-picrica, colorando con Sudan III tionina fenicata ed esaminando a piatto. In tal modo il grasso è aranciato o bluastro, i nuclei sono violetti e le granulazioni in discorso acquistano una delicata gradazione verdastra.

Oltre a queste si trovano poi anche delle granulazioni evidentemente grasse le quali sono circondate da un alone incoloro, talora discretamente ampio (fig. 6, 3*a*).

Coll'ingrandire della « vescicola » il nucleo subisce uno schiacciamento, ed uno spostamento: lo vediamo spesso, ridotto a forma di mezza luna, spinto da un lato. In uno stadio ancor più avanzato si può non distinguerlo affatto. Il protoplasma pure va incontro a modificazioni; i granuli grassi sono sempre meno numerosi, ed il mantello protoplasmatico che avvolge la vescicola acquista un aspetto refrangente e può anche scoppiare.

Vi sono poi vescicole le quali hanno un'altra origine, come zona d'edema perinucleare cioè, la quale va aumentando man mano che il nucleo si impiccolisce, perde le sue granulazioni e si riduce ad un corpicciolo rotondeggiante sempre meno tingibile dai colori nucleari (fig. 4).

Ma qui non è tutto; un aspetto; che ricorda la « vescicola » può esser dato dalla enorme dilatazione degli spazi intercellulari (fig. 5); tale reperto è tutt'altro che raro. Sono probabilmente queste le « vescicole » che il Dott. T. Ferrari riproduce nella fig. 6 del suo 1° lavoro, ma che io ritengo sieno da distinguere dalle *vescicole* propriamente dette.

A codesti « vacuoli intercellulari » anzichè alle « vescicole », come tenderebbe a credere il Dott. P. L. Ferrari, penso si possa annettere qualche importanza nella produzione del liquido amniotico, poichè con ogni probabilità essi sono espressione di un tumultuoso e rapido passaggio di plasma entro la cavità

amniotica; cioè di quel trasudamento del plasma sanguigno fetale attraverso le membrane che dalle esperienze di Jungbluth (19) di Viti ed altri si può ritenere chiaramente provato.

Poichè dopo i lavori del Ferrari T. e del Colpi la questione della presenza di *stomi* nella superficie epiteliale (Winkler-P. L. Ferrari) si può considerare risolta in senso negativo, ricorderò solo che neppure io ebbi mai occasione di veder alcuna di queste supposte formazioni, la quale non si dovesse interpretare o come una « cellula vescicolosa » o come uno spazio intercellulare fortemente dilatato. Nell'epitelio di cavia (che non è cigliato) notai invece talora, a piatto, che alcuni spazi intercellulari, dilatati, ricchi di sostanza cementante, contenevano dei leucociti stranamente foggiati. Nè m'imbattei mai, nell'esame delle sezioni, in quei « canalicoli » di cui parla P. L. Ferrari; canalicoli che, secondo l'A., stabilirebbero una diretta comunicazione fra la cavità amniotica e gli spazi linfatici della membrana stessa; che rappresenterebbero insomma le vie per cui passano le cellule migranti.

Noterò da ultimo come, nè in lembetti d'epitelio freschissimo, nè in altri fissati in alcool assoluto o nella miscela osmiopicrica (Renaut 20), mi fu mai dato rilevare la presenza di granuli i quali per il modo di comportarsi di fronte allo Jodo, si potessero considerare costituiti da glicogene (T. Ferrari).

Ultimato così l'esame delle cellule epiteliali amniotiche, vediamo quale valore si debba ascrivere ad alcuni elementi; cioè ai granuli grassi ed alle « vescicole ».

Accettato che, sì queste come quelli, rappresentino non già un fenomeno cadaverico od un fatto artificiale, ma una degenerazione che si compie durante la vita, dobbiamo ascrivere la degenerazione stessa all'età, poichè io non trovai che, o condizioni di nutrizione del feto, o stati diversi della madre, apportino una sensibile modificazione nel numero loro.

La degenerazione sarebbe quindi fisiologica e progressiva: vediamo infatti i granuli grassi tanto meno abbondanti quanto più vi si allontana dalla maturità dell'uovo; al 5° m. circa,

ad esempio, prevalgono le cellule che non presentano granulazioni grasse di sorta.

Ugualmente vediamo avvenire di quelle granulazioni che furon descritte da T. Ferrari (4-6) nelle cellule connettivali della «lamina tendinea», e che sono certamente costituite di grasso (colorazione con Sudan III°), a differenza delle altre più minute dimostrate nelle stesse cellule da Ferroni (21).

Il numero delle gocciole grasse cresce man mano ci si avvicina al termine del 9° m.; per cui si può dire che la membrana amniotica al termine della gravidanza è un tessuto composto da elementi per la massima parte in preda alla degenerazione granulo-grassa.

Ma questa specie di degenerazione nella «lamina epiteliale» non è la sola: esistono infatti cellule con *vescicole* e *vacuoli* a contenuto acquoso; cellule cioè in degenerazione idropica. Inoltre al disopra delle cosidette cornificazioni, che verranno studiate nella 2ª parte del presente lavoro, vedremo che si trovano elementi trasformati in lamelle cornee.

PARTE II.

Il numero di quelle formazioni descritte da Muller col nome di «cornucole» e da T. Ferrari con l'altro di «cornificazioni» amniotiche è assai vario: da 3-4 ad un centinaio perfino. Io le trovai in tutte le membrane, osservando attentamente ad occhio nudo o colla lente. Loro sede di predilezione è il tratto di membrana che sta presso l'impianto del cordone; nella parte extraplacentare sono rarissime.

Nell'esame a piatto si comprende tosto come constino d'un cumulo di cellule epiteliali le quali stanno stratificate con ordine costante, ma in tal modo non si possono studiare che le cornificazioni minori le quali constano di pochi ordini cellulari, non le più grasse, costituite di strati molteplici.

Nelle sezioni vediamo come quelle formazioni minime, rilevabili solo coll'uso della lente, constino o di un cumulo di

poche cellule alquanto differenti dalle normali, più o meno ricche di granuli grassi (fig. 8), o di elementi d'aspetto corneo, spesso con nucleo ancor dimostrabile, stratificati sopra d'una serie talora non continua di elementi a nucleo piccolo, irregolare, bene tingibile ed a protoplasma finamente granuloso, talora con granuli aventi l'aspetto di quelli di eleidina. Granuli simili ne vediamo poi anche in molte delle lamelle soprastanti, specialmente nelle più basse (fig. 9).

Ai lati di questi ammassi cellulari si trova l'epitelio dell'amnios con il solito tipo; ma accade spesso di vedere che in prossimità della « cornificazione » l'epitelio amniotico va rapidamente appiattendosi quanto più ci si avvicina alla base della formazione; si passa cioè all'epitelio cilindrico con granuli grassi più o meno abbondanti, a cellule epiteliali piatte, allungate, con nucleo fortemente tingibile e protoplasma scarsissimo di granuli grassi, avvicinantesi per caratteri di refrangenza e di colorabilità a quello delle cellule cornee. Esse in parte almeno, nel caso presente, deriverebbero adunque dalla metamorfosi cornea graduale dell'epitelio amniotico stratificantesi sopra una serie di cellule che si presentano di solito in un periodo più o meno avanzato della stessa trasformazione.

Le altre cornificazioni pianeggianti differiscono da quelle or ora descritte perchè lo strato di cellule basali è meglio rappresentato, talora duplice.

Nelle formazioni maggiori poi, a tipo verrucoide, salendo dal basso all'alto, troviamo stratificati varii ordini cellulari. In un primo (fig. 10) si vedono delle cellule le quali ricordano per la loro forma quelle dello strato germinativo (Ranvier) della cute; delle altre quasi cubiche, ed altre ancora, globose con endoplasma incoloro abbondantissimo e nucleo spesso ridotto ad un corpicciolo variamente foggiato, avidissimo per le sostanze coloranti, oppure grande ovale o rotondeggiante, granuloso, circondato da una zona incolora variamente ampia e da protoplasma tingibile copioso. In diverse cellule di questo strato basale si trovano forme cariocinetiche, però non assolutamente tipiche.

Sopra queste stanno in più strati altri elementi il cui volume, sempre grande, si può dire aumenti pari passo con quello della cornificazione, di modo che nelle formazioni maggiori se ne trovano di a dirittura enormi, grandi perfino 6-8 volte più delle cilindriche normali, da cui differiscono anche perchè non presentano nel loro protoplasma vacuoli o granuli grassi.

Il loro nucleo grande, rotondeggiante, granuloso, molto pallido, con nucleoli tinti in bluastro anzichè in rosso dal bleu-policromatico (a differenza quindi delle cellule normali dell'amnios) è circondato da endoplasma incoloro variamente abbondante, e da esoplasma pallido, copioso, il quale presenta delle minute punteggiature regolari, tingibili fortemente, giacenti solo alla periferia della massa protoplasmatica nel caso che l'elemento sia stato tagliato a metà, o disegnanti tutt'un'area cellulare variamente figurata nel caso che cada sott'occhio solo una fetta di protoplasma (fig. 10).

Esaminando certi preparati si potrebbe credere che questi punticini non rappresentassero che la sezione ottica dei filamenti costituenti la « fibrillazione protoplasmatica » come si suole osservare negli epiteli cutanei; ma, poichè con nessuno dei metodi più usati, e neanche con quelli che dimostrano nel modo più netto la punteggiatura, mi fu dato di porre in evidenza in queste cellule la « fibrillazione », mentre che essendo tanto grandi, essa dovrebbe essere evidentissima, così queste punteggiature non credo si possano considerare che come minime ciglie viste dall'alto.

In nessuna delle sezioni colorate col metodo Weigert per la fibrina, o con quello Altmann-Ferrari, vidi mai formazioni simili alle così dette « spirali d'Herxheimer » tanto abbondanti invece nell'epitelio cutaneo. Tale mancanza mi pare degna di nota e viene a confermare quello che a proposito della natura delle spirali ebbi a scrivere in un recente contributo eseguito in collaborazione col D.r Locatelli (22): che cioè esse non sieno se non una modalità di presentarsi della fibrillazione epiteliale, modalità legata al metodo di colorazione ed a speciali condizioni della fibrillazione medesima:

questa non essendo dimostrabile, si capisce come manchino le spirali.

Nelle cornificazioni maggiori, sopra lo strato ora descritto, se ne trova uno, o più, di cellule ricche di piccole granulazioni simili a quelle di eleidina (Ranvier); ma che se ne differenziano perchè non vengono sciolte dal cloruro sodico (10 %) fatto agire per varie ore (6-14).

Sopra a questo « granuloso » si trova un altro strato costituito da lamelle cornee, le quali, specialmente quelle mediane, per azione discretamente protratta dell'acido osmico abbrunano abbastanza intensamente. Tale reazione non è priva d'importanza poichè verrebbe a confermare l'opinione di Liebreick e Ranvier, che cioè il grasso delle cellule cornee sia dovuto ad un prodotto di sdoppiamento del loro protoplasma.

Anche queste cellule spesso con nucleo ancora tingibile (paracheratosi) presentano, variamente abbondanti, delle granulazioni che hanno le stesse proprietà di quelle ricordate nel « granuloso ».

Inoltre con bleu-policromatico o con toluidina si vedono ben visibili quelle minime punteggiature rosso-porpora, sparse su tutta la superficie cellulare, le quali, secondo le ricerche di Mac Leod (23) rappresenterebbero le ciglie atrofiche, cheratinizzate.

Lo strato ultimo, il più superficiale è costituito da elementi con granuli grassi e vescicole: quest'epitelio che ricopre quasi la cornificazione e che ha origine dal normale cilindrico, va incontro ad una graduale keratinizzazione. Vediamo qua e là elementi di varia configurazione, poveri di « granuli » i quali assumono man mano una tinta osmica più pronunciata e nei quali con la fucsina acida nulla si colora ad eccezione talora delle ciglia ridotte a minimi punticini. Negli stessi preparati (metodo Altmann-Ferrari) si trovano altre cellule, poste di solito più in basso di quelle ora descritte, col protoplasma ricco di granulazioni rosse; perciò spiccano assai bene sulle bruniccie omogenee prima ricordate, e si differenziano altresì da certe altre pure granulose (a forte decolorazione) le quali sono

in toto od a zolle colorate dalla fucsina, come le cellule ormai keratinizzate. Probabilmente tutti questi non sono che varii stadi d'un medesimo processo di cheratinizzazione.

Le granulazioni che si trovano in queste cellule si comportano in faccia alle sostanze coloranti ed alla soluzione 10 °/₀ di NaCl, come quelle dello strato granuloso; ma quale sia la loro origine io non saprei dire; questo punto si attacca a quello dell'origine ancora discussa dei granuli di keratoialina od eleidina granulosa (Ranvier). Tuttavia noterò che le granulazioni dello strato granuloso io le vidi (fissazione Hermann, o sublimato acetico-Müller e colorazione con fucsina acida) disposte in modo assai vario; nelle cellule più basse sono rare e sparse nel protoplasma anche molto lontane dal nucleo: nelle più alte crescono di numero e sono generalmente raggruppate in tutta prossimità del nucleo da cui sogliono esser nettamente separate per mezzo di una sottile zona d'entoplasma incoloro. Queste granulazioni poi nei preparati colorati ad essi col metodo di Cavazzani (24) le vediamo assumere una tinta aranciata variamente intensa mentre i nuclei sono colorati in rosso-vinoso, tanto nel caso che conservino la loro forma, come nel caso che, per esser andati incontro ad un processo di frammentazione, sieno rappresentati da un ammasso di granuletti che ne tengono il posto.

Nello strato corneo invece, colla stessa colorazione, si vedono alcune lamelle con nucleo piccolo, omogeneo, rosso-vinoso od anche aranciato; altre o senza nucleo, o con un cumulo di granuli aranciati che ne occupa il posto; ma non mi riescì stabilire alcun rapporto fra la scomparsa o la dissoluzione granulare del nucleo e la comparsa delle granulazioni disperse nel protoplasma, poichè ad esempio, accanto a delle lamelle nucleate con o senza granuli ne vidi delle altre prive e di questi e di quello.

Noterò anche, sperando che studi ulteriori chiariscano meglio tutti questi punti da me appena accennati, che nelle cellule granulose e più ancora nelle cornee (fissazione sublimato-Müller, colorazione con fucsina acida) incontrai talora, frammiste a

quelle intensamente rosse, delle piccole gocciole totalmente incolore, altre debolmente tinte in roseo alla periferia, ed altre ancora tinte totalmente in roseo pallido; per cui parrebbe che esistesse una serie continua di modificazioni fra le gocciole incolore e le altre fortemente colorate dalla fucsina.

Da ultimo ricorderò che nello strato corneo ed anche nell'altro che gli sta di sopra sono frequenti delle formazioni grossolanamente rotondeggianti, bene tingibili con fucsina, toluidina, genziana ecc., le quali fanno perfettamente riscontro a quelle che si osservano nei papillomi, specialmente cutanei, e che da Ducrey ed Oro (25) vennero sospettate come psorospermi, mentre Boeck, Neisser, Török ecc., le giudicarono cellule epidermiche irregolarmente corneificate: opinione codesta cui le presenti ricerche porterebbero una conferma.

Dall'esame di queste formazioni alcuni fatti emergono, cioè: l'aumento di volume delle cellule e specialmente di quelle dello strato spinoso, aumento che è tanto più evidente quanto meglio è sviluppata la « cornificazione », e che è accompagnato da un maggior volume e da una minore colorabilità del nucleo divenuto più rotondeggiante; la piccolezza, la mancanza talora delle gocciole dello strato granuloso; la conservazione del nucleo in molti elementi dello strato corneo.

Sono queste modificazioni analoghe a quelle che si riscontrano in una speciale alterazione dell'epidermide nota sotto il nome di *paracheratosi;* per ciò, e pel fatto che nella loro costituzione entra il solo epitelio, mi sembrerebbe che ad esse, anzichè il nome di « caruncole » o « cornificazioni » corrisponda meglio quello di *paracheratosi.*

Cercando di sorprendere gli stadi iniziali di queste « paracheratosi » vediamo da prima dei gruppi di cellule che si inclinano verso il piano connettivale di modo che il loro asse maggiore non è più disposto perpendicolarmente, ma orizzontalmente; man mano esse van facendosi più grosse delle circostanti e grossolanamente globose in guisa da costituire un primo strato (fig. 7) di elementi differenziati, sui quali si

accumulano altri strati cellulari (fig. 8) dovuti con tutta probabilità alla proliferazione del primo: dico probabilmente poichè io non vi trovai in questa fase che scarsissime figure le quali potevano far sospettare la cariocinesi. Il più delle volte l'epitelio circostante, il quale conserva il tipo normale prolifera e le cellule neoformate, stratificandosi, vanno a ricoprire gli elementi differenziati. In un periodo un po' più avanzato queste due masse, cioè quella degli elementi costituenti la futura «paracheratosi», e l'altra degli elementi dovuti alla moltiplicazione dell'epitelio amniotico circostante, le vediamo distinte da una sottile linea di lamelle keratinizzate, dovute all'evoluzione cornea delle cellule per prima sovrappostesi alle differenziate. Queste poi nelle paracheratosi bene sviluppate costituiscono un vero corpo mucoso (fig. 10) con strati distinti, nel più profondo dei quali si trovano nuclei aventi una disposizione della cromatina in figure che circondano le cariocinesi tipiche.

Ma non sempre si giunge a forme così evolute; frequenti sono invece, come vedemmo, le altre nelle quali uno o due strati di cellule povere di protoplasma sono ricoperte da una notevole quantità di lamelle cornee (fig. 9). Io credo che queste non si debbano considerare nè come fasi ultime, nè come intermedie; bensì come «paracheratosi» nelle quali il corpo mucoso non potè svilupparsi rigogliosamente, di modo che avvenne presto la metamorfosi cornea.

Le «paracheratosi» dell'amnios, adunque risulterebbero dovute alla moltiplicazione di zolle epiteliali le quali, per ragioni che non riuscii ad afferrare, entrano in una attiva e spesso continua proliferazione, modificando il loro tipo di guisa da presentare notevoli affinità con quelle dell'epidermide; fatto questo che si potrà spiegare pensando che epitelio cutaneo ed amniotico hanno la stessa origine embriologica, dal foglietto ectodermico cioè, sia che si accetti la vecchia teoria della formazione dell'amnios per mezzo di pliche, sia che si condividano le recenti vedute del Giacomini (26) il quale ammette una formazione preembrionaria dell'amnios da una massa origi-

natasi dal chorion; ma fatto che rimane certamente curioso e non privo d'interesse pel dermatologo.

Spesso il primo accenno di queste formazioni lo si trova attorno o presso ad una grossa vescicola o ad un gruppo di quegli elementi (pag. 10) che si tingono in giallo usando il metodo Altmann-Ferrari. Ma per difetto di materiale adatto alla ricerca (membrane dei primi mesi) io non posso dire se tali reperti sieno espressione di una degenerazione avvenuta secondariamente, o non rappresentino piuttosto lo stimolo alla differenziazione ed alla proliferazione stessa, tanto più che cercai invano nella « lamina connettivale » sottostante qualche fatto che potesse spiegare lo sviluppo delle paracheratosi.

CONCLUSIONI.

1. L'epitelio dell'amnios umano è disposto in un solo strato e si presenta alla fine del 9° mese con tipo diverso a seconda della porzione che riveste: è piatto sul cordone, cilindrico sulla zona iuxtaplacentare, cubico sulla extraplacentare.

2. Le cellule epiteliali iuxta ed explacentari sono spinose.

3. I « granuli » constano di sostanze grasse diverse, e rappresentano una degenerazione che avviene durante la vita, non un fatto cadaverico od un prodotto artificiale.

4. Le « vescicole » vanno distinte dai « granuli »: la loro origine è varia. Alcune principiano come zona di edema perinucleare, zona la quale cresce man mano che il nucleo si riduce nel volume e degenera: altre originano nel protoplasma e contengono un corpicciolo che non presenta le reazioni del grasso. Inoltre si trovano dei granuletti grassi circondati da una zonula di sostanza simile a quella delle « vescicole » ed anche, piuttosto raramente, dei piccoli « vacuoli » a contenuto acquoso, omogeneo.

5. Gli spazi intercellulari possono, venendo fortemente dilatati, assumere forma globosa, e dare imagini che ricordano le « vescicole ».

6. Nessuna di queste formazioni a vescicola contiene mucina; ma tutte una sostanza acquosa.

7. Sulla superficie epiteliale dell'amnios non si aprono stomi.

8. La ricerca del glicogene nelle cellule epiteliali mi riuscì sempre negativa.

9. Fra l'epitelio dell'amnios, specialmente nella zona iuxtaplacentare e del cordone, per ragioni ignote, si differenziano gruppi di cellule da cui prendono origine delle formazioni composte di strati bene distinti per caratteri propri, aventi notevoli punti di contatto con quelli che compongono l'epidermide.

Queste formazioni, già note coi nomi di « caruncole » e di « cornificazioni » amniotiche, presentano alcuni caratteri che le ravvicinano alle paracheratosi cutanee, perciò proporrei si chiamassero *paracheratosi amniotiche*.

Padova, 20 giugno 1900.

BIBLIOGRAFIA

1. Viti A., « L'amnios umano nella sua genesi e struttura, ecc. », Siena, 1886.
2. Colpi A., *Arch. per le scienze mediche*, Torino, 1898.
3. Hotz A., « Ueber das Epithel des Amnion ». Dissertation. Bern, 1877.
4. Ferrari Tullio, *Riv. veneta di scienze mediche*, 1898.
5. Vignolo, *Annali di Ostetricia e Ginecologia*, Milano, 1897.
6. Ferrari Tullio, *Arch. Ital. di Ginecologia*, Napoli, 1898.
7. Migliorini G., *Annali di Ostetricia e Ginecologia*, Milano, 1899.
8. Ahlfeld, « Hydramnion » (*Berich. u. Arbeit. a. d. geb.-gynaekol. Klinik. z. Marburg.*, 1883-84, Bd. II.
9. Meola F., *Rivista internaz. di medicina e chirurgia*, 1884.
10. Lauge, *Zeitschrift f. Geburts. u. Gynaekol.*, Bd. 23, H. I.
11. Ahlfeld, *Berich. u. Arbeit. a. d. geb.-gynaekol. Klinik. z. Marburg*, 1883-84, Bd. II.
12. Ranvier, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1882.
13. Ranvier, *Comptes rendus, ecc.*, 1899.
14. Herxheimer, *Arch. f. mikr. Anatom. u. Entwick. geschichts*, 1899, Bd. LIII.
15. Ferrari P. L., *Lo Sperimentale*, 1895.
16. Ahlfeld, *Arch. f. Gynaekologie*, Bd. VI, H. 3.
17. Daddi, *Giornale della R. Accad. di Medicina*, Torino.
18. Ferrari Tullio, « Contribuzione allo studio della fine struttura del nucleo e del protoplasma ». Milano, 1895.
19. Jungbluth, « Beiträg. z. Lehre v. Fruchtwas. u. sein. ubermäs. Vermehr ». Dissertat., Bonn, 1869.
20. Renaut J., « Traité d'histologie pratique », Paris, 1897.
21. Ferroni, *Ann. Ostetr. e Ginecolog.*, 1898.
22. G. B. Locatelli e Migliorini, *Giorn. ital. di malattie veneree e della pelle*, 1900.
23. Mac Leod, *Monats. f. prak. Dermat.*, 1, I, 1899.
24. Cavazzani Alberto, *Riforma medica*, n. 201, 1893.
25. Ducrey ed Oro, « Contribuzione all'istologia patologica, etiologia e patogenesi del condiloma acuminato », Napoli, 1893.
26. Giacomini, « Uovo umano di 11 giorni ». Torino.

Spiegazione delle Figure.

FIG. 1. — *a*, Epitelio del cordone; fine 9° m; a piatto;
b, id. iuxtaplacentare » » di lato;
c, id. extraplacentare » » »
Fissazione in acido osmico.

FIG. 2. — Epitelio iuxtaplacentare alla fine del 9° m. Metodo Weigert per la fibrina. Reichert. Oc. 4. immers. $^{1}/_{12}$.
Dimostrazione delle ciglia e della struttura del protoplasma.

FIG. 3. — *a*, Epitelio iuxtaplacentare verso il 5° m. Fissazione nella miscela osmio-picrica; colorazione con Sudan III e tionina fenicata. Granuli grassi, ed altri granuli non grassi con attorno un aloncino incoloro (sono i maggiori, più pallidi). — Oc. 4. Immers. $^{1}/_{12}$.
b, Epitelio di cavia: fissazione alcool, colorazione con tionina fenicata. Corpicciolo contenuto in un grosso vacuolo del protoplasma; e « vacuoli » protoplasmatici, omogenei. — Ocul. 4. Immers. $^{1}/_{12}$.
c, Epitelio iuxtaplacentare, fine 9° m. Fissazione osmica. Cellule « vescicolose ». — Oc. 4. Ob. 8.

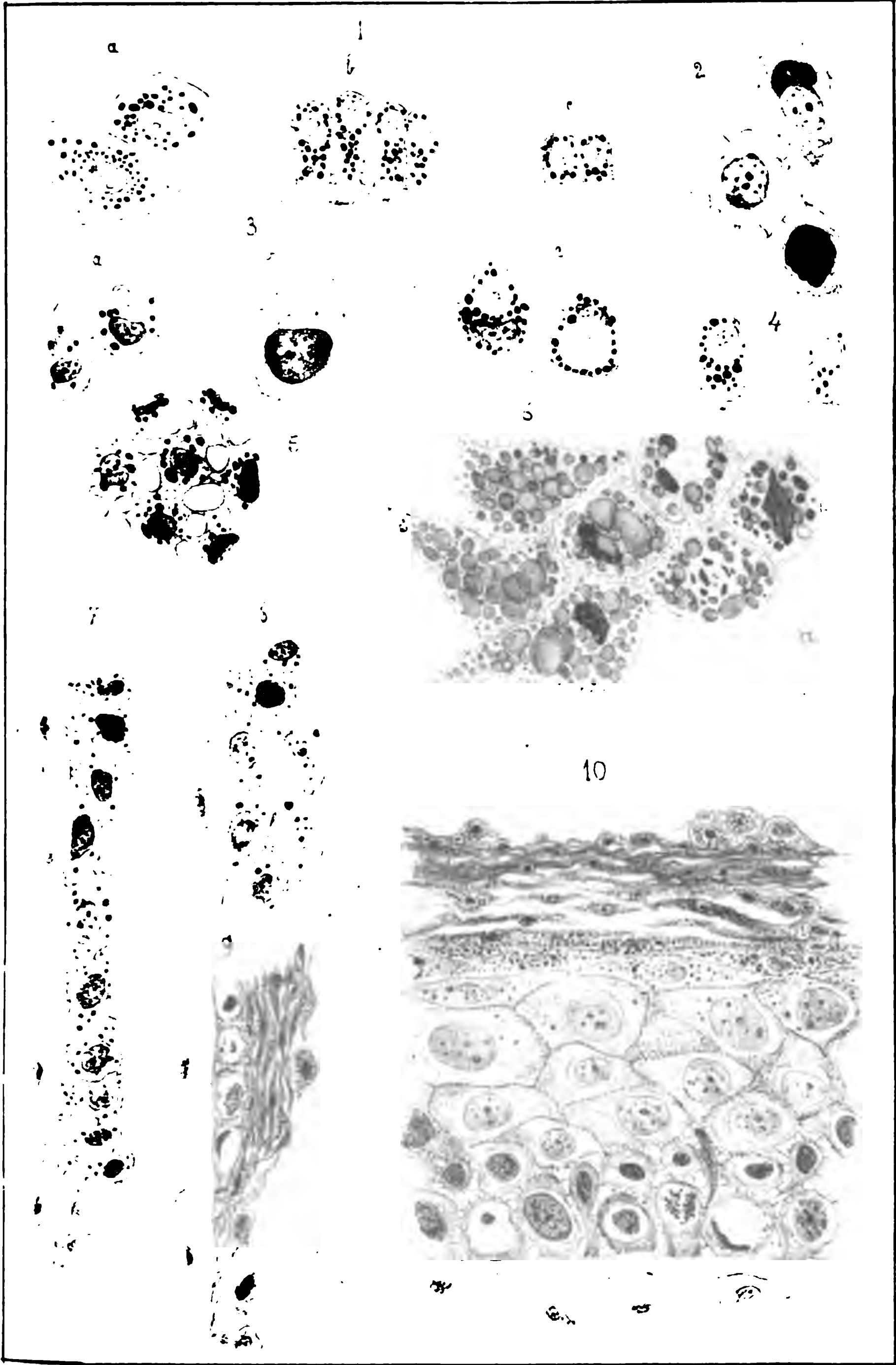
FIG. 4. — Epitelio come fig. 3,*c*. Zona d'edema perinucleare in varie fasi. Fissaz. osmica. Colorazione con ematossilina. — Oc. 4. Ob. 8.

FIG. 5. — Epitelio iuxtaplacentare fine 8° m. Fissazione nella miscela osmio-picrica. Coloraz. con tionina. Spazi intercigliari fortemente dilatati a forma vescicolosa. — Oc. 4. Immers. $^{1}/_{12}$.

FIG. 6. — Epitelio iuxtaplacentare, fine 9° m. Fissazione colla miscela osmio-picrica; colorazione con ematossilina e Sudan III. Cellule a « granuli » sudanofili ed osmiofili; (*a*) granulazioni di cromatina.

FIG. 7, 8, 9. — Stadi diversi delle « paracheratosi ». Fig. 9. metodo Altmann-Ferrari. Fig. 7-8 color. saffranina. « Granuli » grassi conservati nelle fig. 7-8. — Oc. 4. Ob. $^{8}/_{12}$.

FIG. 10. — « Paracheratosi » completamente sviluppata. Metodo Altmann-Ferrari. — Oc. 4. Immers. $^{1}/_{12}$.



Dott. MIGLIORINI dis. e lit.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE — Vol. XXIV. N. 13.

SULLA RIGENERAZIONE PARZIALE DELLA PROSTATA

STUDIO SPERIMENTALE

DEL

Dott. Ettore PICCOLI
Chirurgo dello Spedale di Lendinara.

(Tav. V)

Come il Langerhans (1) nel 1874, accingendosi allo studio della struttura istologica della prostata, ebbe a constatare con meraviglia la mancanza quasi assoluta di conoscenze dettagliate in proposito, altrettanto oggidì chi si fa a raccogliere la letteratura della rigenerazione parziale di questo stesso organo, è colpito dalla scarsità delle notizie che si posseggono su di essa.

Mentre infatti i processi riparatori dei diversi tessuti ghiandolari furono illustrati negli ultimi anni assai diffusamente, la rigenerazione parziale della prostata non è stata oggetto — almeno per quanto io ne so — che di ricerche fatte nel Laboratorio del Prof. Bizzozero a Torino dal Dott. Drogoul, il quale ne riferì in una Nota preliminare (2), presentata nella Seduta del maggio 1887 all'Accademia Medica di Torino.

Non mi venne fatto però di ritrovare una monografia com-

(1) P. Langerhans, « Ueber die accessorischen Drüsen der Geschlechtsorganen » (*Virchow's Archiv*, Bd. LXI, 1874).

(2) G. Drogoul, « Sulla rigenerazione del tessuto della prostata » (*Riforma medica*, vol. I, pag. 761, 1887).

pleta corrispondente a questa Nota per cui, deducendone che le ricerche del Drogoul non si fossero estese più oltre, in un mio lavoro precedente sulla guarigione delle ferite (1) ebbi appunto a designare la prostata come uno di quegli organi di cui ci è nota clinicamente l'attitudine a riparare le perdite di tessuto, ma di cui non conosciamo le intime modalità del processo riparatore.

Nella sua Memoria preventiva il Drogoul si dichiarava in massima favorevole al concetto di una rigenerazione parziale della prostata.

In seguito a ferite sia semplici, come accompagnate a perdita di sostanza, ha sempre notato una attiva moltiplicazione per cariocinesi degli elementi epiteliali vicini, per effetto della quale, dopo sole ventisette ore, si possono vedere dei cordoncini o degli ammassi di cellule epiteliali neoformate, che più tardi si trovano distribuite in alveoli, collocati nel giovane tessuto connettivo. Si distinguono esse dalle preesistenti per essere più granulose, con protoplasma delicato e abbondante, e dotate di minore attività verso le sostanze coloranti. Ma dopo cinque o sei giorni le mitosi sono poco numerose e l'attività rigeneratrice va scemando; dopo dodici giorni, in mezzo ad una massa di connettivo giovane, si notano parecchie vescicole tappezzate da epitelio neoformato, che si distinguono dalle preesistenti per la forma meno regolare. Il connettivo cicatriziale proviene dall'attività degli elementi capsulari ed interacinosi; le fibre muscolari liscie prenderebbero poca parte a questo lavorio di riparazione.

L'Autore si proponeva da ultimo di allargare la cerchia di questi dati, procurandosi dei nuovi reperti.

A me parve frattanto cosa utile il riprendere tali studi, sia per completarne i risultati, come nell'intento di contribuire in parte all'illustrazione di un capitolo così importante della Patologia, quale è quello delle rigenerazioni.

---

(1) E. Piccoli, « La teoria nella guarigione delle ferite. Cenni storici e stato attuale » (*Rivista Veneta di Scienze mediche*, fasc. I-VII, 1893).

Ho istituito a tal uopo una serie di ricerche sperimentali sulla prostata del cane.

Quest'organo ha una forma simile a quella di una castagna, bilobata; il suo volume è variabile, non solo in rapporto con lo sviluppo, ma ancora con la razza dell'animale: i cani meticci volpini, ad es., e sopratutto gli alani, anche se di grossa taglia, hanno prostata assai piccina, schiacciata, allungata, cordiforme, prevalentemente fibrosa, per cui non corrispondono per un tal genere di ricerche; anche i cani vecchi, in cui la prostata è molliccia e contiene un liquido denso, lattiginoso, come pure quelli che presentano alterazioni dell'apparecchio sessuale — di cui l'organo in parola, poco o molto, si risente — non sono utilizzabili.

Del resto sia nei riguardi dell'aspetto complessivo, del rapporto fra l'organo e l'uretra, della presenza di un *colliculus seminalis*, come del decorso dei vasi deferenti, dell'esistenza di una *vescicula prostatica*, ora chiusa, ora comunicante col canale urinario, e di molti altri particolari, la prostata del cane, meno poche modificazioni dimostra la più spiccata analogia con quella dell'uomo.

Non è lo stesso invece per ciò che riflette i rapporti con gli organi vicini. In questo animale infatti, tanto la vescica come la parte superiore dell'uretra, godono di una indipendenza notevole: affondate nel piccolo bacino, non vi restano fissate da legamenti proprî e si possono spostare in varie direzioni, per un braccio abbastanza lungo.

Questa circostanza, accoppiata all'altra, cui si è accennato più sopra, che l'organo è più sviluppato verso il pube che verso il retto, fece sì che io scegliessi per raggiungere la prostata la via soprapubica.

Solevo aprirmi questo accesso praticando una incisione parallela al margine del pene, a distanza di circa un cm. per tutta o quasi la lunghezza di esso. Poi abbandonato il bistori procedevo con due pinze anatomiche all'isolamento del tessuto cellulo-adiposo sottocutaneo, allacciando o semplicemente torcendo alcuni vasi sanguinanti, fino a scoprire la fascia dei

retti. Fatto ciò riconoscevo la linea alba e la aprivo col bistori a cominciare dal pube e salendo per sei o sette cm. A questo punto è agevole divaricare i retti, introdurre il dito nel piccolo bacino, ritrovare la prostata e attirarla fra le labbra della ferita.

La faccia superiore dell'organo, coi suoi due lobi prominenti, rappresenta la parte più favorevole, su cui far cadere la lesione, non soltanto perchè più accessibile dal punto di vista operatorio, ma ancora perchè ivi l'elemento ghiandolare è raccolto in copia maggiore che altrove, come ho potuto constatare praticando in senso trasversale all'organo delle sezioni asseriate. I piccoli cunei di tessuto asportato — pur tenendo conto della tendenza della capsula a retrarsi dopo l'incisione — non lasciavano mai una scontinuità superiore ai due o quattro mm. in profondità e ai due o tre nel massimo diametro della base ed erano poi proporzionati alle dimensioni dell'organo.

Ho sempre ottenuto guarigioni ottime; sopra oltre sessanta atti operativi trovai due sole volte del pus raccolto sotto alla ferita dei comuni tegumenti, ma la vescica, la prostata, le pareti del piccolo bacino ed il peritoneo, anche in questi casi, come in tutti gli altri, erano immuni da rossori flogistici o da stratificazioni o raccolte di carattere sospetto.

Chiudo queste note preliminari con qualche appunto sulla struttura istologica normale della prostata di cane, da me studiata sopra sezioni praticate in senso trasverso all'asse longitudinale dell'organo e montate in serie.

Vi si distingue uno stroma connettivo ed un parenchima ivi racchiuso in lobuli.

Nello stroma della prostata si differenzia una porzione periferica a disposizione concentrica, o capsula, da cui procede la porzione convergente a guisa di setti che formano l'impalcatura dei lobuli e si fondono poi attorno all'uretra per costituirvi il cercine periuretrale.

La capsula si presenta costituita di lunghi fasci di fibre, fitte, parallele, ondulate, con rari nuclei disseminati qua e là.

Spesso verso la periferia si differenzia uno strato piuttosto sottile a struttura fibrosa più spiccata, sotto al quale decorrono vasi numerosi di calibro anche grosso. Nella capsula si notano fibro-cellule muscolari liscie, variamente aggruppate e più che altrove frequenti in prossimità al connettivo elastico.

Dallo strato più interno della capsula si staccano con direzione retta e convergono verso il lume dell'uretra i setti interlobulari più o meno ampî con nuclei e fibro-cellule numerosi e solcati da qualche vaso, almeno nella parte loro più periferica. Talora verso la loro estremità centrale si biforcano per abbracciare qualche lobulo ghiandolare profondo più piccolo, da ultimo confluiscono tutti attorno all'uretra, ove il connettivo appare povero di nuclei e di fibro-cellule, come di vasi, senza distinzione, verso l'uretra, di uno speciale strato submucoso. Questa risulta di epitelio cilindrico in più strati, cui sono annesse frequenti ghiandole tubulari o semplici infossamenti epiteliali.

Nel cercine periuretrale decorrono i dutti escretori che prendono origine dagli acini come dutti secondarî e confluiscono a formare i dutti principali, che sboccano nell'uretra ai lati del *veru montanum*.

Il tessuto ghiandolare è distribuito in lobuli conici disposti in raggiera a ridosso della capsula ed in lobuli più piccoli, sferoidali, che si trovano in prossimità all'uretra. Non ho potuto nei miei preparati trovare traccie di una membrana propria dei lobuli, di cui parlano Henle, Petit e Variot, Schenck e molti altri. Nell'interno dei lobuli si spingono fasci connettivi, che emanano dai setti e che cingono gli acini, attorno ai quali le fibro-cellule si dispongono realmente, come descrisse Lusena, in guisa da costituire una specie di guaina muscolare, che effettua lo svuotamento del secreto ghiandolare. Gli acini si presentano come otricoli fittamente stipati, ovoidali, rotondeggianti, allungati, talora tubulari, il cui rivestimento epiteliale apparisce come duplicato, là ove pareti intermedie, che dividono incompletamente due vescicole vicine, sono colpite in sezione trasversa.

L'epitelio degli acini è costituito da elementi cilindrici, finemente granulosi, secondo taluno striati in senso longitudinale, disposti in istrato unico, non doppio come credeva Langerhans, perchè in qualche punto appaiono più numerosi ed addossati gli uni agli altri.

I dutti escretori posseggono uno strato fondamentale di cellule prismatiche, schiacciate, a cui è sovrapposto un altro strato di cellule cilindriche più numerose, più stipate; non sempre però la distinzione fra gli elementi dell'uno e dell'altro piano cellulare è agevole ed appariscente.

Nelle varie sezioni dell'organo i rapporti fra stroma ed elemento ghiandolare si presentano variamente: presso al collo vescicale si differenzia una calotta in cui si trovano fibre striate raccolte in collarino a formare lo sfintere esterno vescicale e che presenta stroma assai robusto ed elemento ghiandolare scarso; segue una porzione mediana con notevole prevalenza del tessuto ghiandolare, che vi è così fitto quale non lo ritroviamo in nessuno dei comuni animali dai cui organi sogliamo ricavare preparati istologici, ed infine una calotta inferiore che ripete il tipo della superiore, eccetto che non possiede fibre striate.

Dedico poche parole alla tecnica da me seguita per la dimostrazione istologica dei preparati.

I pezzi inclusi in paraffina venivano sezionati al microtomo Minot e montati in serie. Ho praticato alcune colorazioni *in toto* valendomi del carminio alluminoso preparato secondo il Pisenti, ma per lo più colorai le sezioni sul portaoggetti, col metodo di Bizzozero per la dimostrazione delle mitosi e con ematossilina ed ac. picrico per le colorazioni d'insieme; questo procedimento concede il massimo di chiarezza nei rapporti fra elemento connettivo e ghiandolare e fra parte rigenerata e parte preesistente.

Qualunque ferita indotta nella prostata, anche se lineare, ci si presenta subito come una ferita con perdita di sostanza, perchè i suoi margini si retraggono, per lo stato di tensione

in cui si trova la capsula, e il parenchima vi fa ernia a guisa di due labbra efflorescenti.

Incomincia tosto una emorragia insistente, per lo più a nappo, ma spesso anche sostenuta da vasellini recisi della capsula, che il più delle volte non riesce di domare per intero.

Ne viene che — rimesso l'organo in posto — un po' di sangue effonde fra le zolle adipose in cui sta affondata la prostata, e poi coagulandosi fa aderire queste alle superfici di cruentazione. Allora, esaminando una prostata, di fresco operata, non ne riconosciamo subito la parte in cui è caduta l'escisione, perchè è mascherata da un cuscinetto, qualche volta anche voluminoso, di adipe di cui specialmente gli strati profondi si presentano infiltrati d'un bel rosso ematico e aderiscono saldamente alla superficie dell'organo. Se invece l'operazione data da epoca più lontana — due settimane circa — l'involucro grassoso si stacca facilmente perchè il riassorbirsi del coagulo ne ha favorito l'isolamento; ed infine, quando il ciclo riproduttivo è completamente chiuso, la prostata si ritrova libera ed il tratto esciso è contrassegnato da una piccola depressione elittica della capsula.

Il tipo del processo riparatore che si stabilirà in seguito alla praticata escisione — per quanto emerse dalle mie ricerche — risulta strettamente dipendente dal modo di prodursi del coagulo, che, occupa in primo tempo la scontinuità.

In molti casi infatti, anzi nella maggior parte delle mie esperienze, il lavorìo di riparazione mi apparve, ora semplicemente ritardato, ora addirittura sospeso, nel complesso imperfetto e non proporzionato all'epoca in cui era avvenuta l'operazione, e questi reperti coincidevano appunto con quei casi in cui erasi verificata la produzione di un coagulo esteso, il quale contraeva col tessuto circostante rapporti speciali.

Invero esso si inframetteva occupando per intero la scontinuità a guisa di cuneo, prominente in superficie e accollato alle linee di cruentazione; le cavità ghiandolari circostanti apparivano ripiene di sangue fresco o di residui ematici, gli epitelî in parte caduti ed in parte rigonfi e granulosi, i vasi

ectasici e circondati da fitto infiltrato parvicellulare che, del resto, in larghe zone occupava pure ogni altra parte vicina al tratto operato.

In tali condizioni perfino dopo venticinque giorni, quando ormai ogni traccia di raccolta sanguigna era scomparsa, ho trovato, in una serie di preparati la perdita di sostanza immodificata: i rivestimenti epiteliali si interrompevano là ove era caduta l'escisione, senza accenno alcuno a riparazione della parte perduta e piccole zone di infiltrato parvicellulare si notavano ancora qua e là.

Da ciò fui condotto ad ammettere che, sia determinando direttamente colla sua presenza le condizioni locali testè descritte, poco adatte allo stabilirsi di fatti riparatori, sia per altre cause, eventualmente riflesse, un coagulo sanguigno sfavorevolmente disposto, debba anche nel caso attuale figurare fra quelle condizioni capaci di paralizzare le attitudini rigenerative di un tessuto, segnalate del resto da quasi tutti gli osservatori di tali processi.

Qualche volta senza che si verificassero le condizioni predette, mancava egualmente ogni accenno allo stabilirsi di fatti riparatori; quali cause della deficiente reazione ho trovato alterazioni senili dell'organo e deformità congenite nella sfera sessuale (criptorchismo) od applicazioni di termocauterio all'atto dell'escisione per emorragia insistente; spesso però non mi riuscì di trovare una causa plausibile al fatto.

A prescindere da questi casi in cui la rigenerazione non potè avviarsi, nè compiersi regolarmente, ne ho trovato altri in cui il quadro dei fatti riparatori appare proporzionato all'epoca del loro inizio: essi costituiscono nel complesso una serie non interrotta di reperti progressivi da quaranta ore a trentadue giorni, che, se non mi permisero di scendere a dettagli istologici, mi concedono però di abbozzare, nelle sue grandi linee, il processo di riparazione delle ferite da taglio della prostata sia semplici come associate a perdita di sostanza.

Nei periodi iniziali la scontinuità si riconosce subito nelle

sezioni esaminate al microscopio per la sua forma di incisura angolare scavata nel parenchima. In quei preparati da cui rilevo queste note, essa appariva libera, non tappezzata da residui ematici, nè da pseudomembrane o da stratificazioni fibrinose, ed il coagulo appena leggermente si accollava su di essa.

Per un certo tratto all'intorno dell'incisura anzidetta e con una intensità sempre decrescente mano a mano che ci si allontana da essa, il parenchima presenta fenomeni di recente reazione alla perdita subìta.

Lo stroma è sede di un' infiltrazione parvicellulare mediocre distribuita in focolai ora isolati, ora confluiti e che ove assumono più vaste proporzioni conglobano parecchi acini assieme. Di questi poi alcuni si presentano poco o nulla alterati, altri mostrano evidenti modificazioni, varie da caso a caso, ma che risalgono sempre a due soli modi di origine e cioè ad un processo di rinnovazione dell'epitelio o ad una deformazione delle cavità degli acini.

Queste alterazioni sono abbastanza chiare di per sè perchè occorrano molte parole per illustrarle.

La caduta dell'epitelio è un fatto dipendente da insufficiente trofismo e coincide infatti con una fitta infiltrazione dei setti circostanti: ove la raccolta delle piccole cellule rotonde è cospicua, così da ingombrare le vie nutritive del setto e circonda l'acino d'ogni lato isolandolo, l'epitelio di rado resiste, ma cade anche assai presto e i residui di esso sporgono in lunghe falde di cellule asseriate nella cavità dell'acino, o vi si ritrovano già ridotti in detrito e commisti a leucociti ed emazie. Quei tratti di epitelio che rimangono tuttavia conservati saranno poi deputati alla riparazione di quello caduto e infatti qua e là si veggono anche fra gli elementi di essi figure di mitosi.

Noto qui di passaggio, come gli studi di Bizzozero e Vassale (1) avessero già dimostrato che nella prostata del

(1) Bizzozero e Vassale, « Sulla produzione e rigenerazione fisiologica degli elementi ghiandolari » (*Arch. per le Scienze med.*, vol. XI, 1887).

cane adulto anche in condizioni fisiologiche si osservano alcune cellule contenenti nuclei in cariocinesi.

Quanto alla deformazione della cavità degli acini — fatto che si osserva però su più ristretta scala — essa si verifica più particolarmente in immediata vicinanza alla linea di cruentazione e si spiega coll'avvenuta alterazione dei rapporti di mutua pressione che intercedono di norma fra acino ed acino: gli acini si spingono col loro contorno verso la parte in cui tale pressione ha ceduto, così che le loro cavità si allargano in guisa di insaccamenti rotondeggianti o di espansioni lunghe, tubulari, ed in altri modi ancora a seconda che la varia disposizione dei setti favorisce l'una o l'altra maniera di deformità.

Procedendo oltre questa zona in cui si svolgono le alterazioni secondarie che abbiamo testè accennato, si arriva sulla linea di cruentazione segnata attraverso ad aggruppamenti ghiandolari ed a setti interstiziali, ove ci si presenta da studiare partitamente il comportamento del connettivo e quello dell'epitelio degli acini.

Del primo ci occuperemo più innanzi e qui basti il ricordare che complessivamente esso appare tardo e lento; la neoformazione connettiva invero si rende evidente là dove lo stroma prevale, ma in corrispondenza degli aggruppamenti ghiandolari, ove dovrebbe essere assunta dalle sottili trabecole interacinose, manca del tutto od è appena abbozzata.

Quivi invece si presenta degno di studio il comportamento di quegli acini che in parte andarono distrutti dalla lesione e in parte rimasero innicchiati nel tessuto limitante la linea di cruentazione, siccome quelli da cui dovrebbe prendere le mosse la produzione delle nuove formazioni ghiandolari proprie del tessuto.

In alcuni di essi la distruzione già iniziata dalla lesione si completa e al loro posto rimane uno spazio scavato nello stroma ove si raccoglie l'epitelio che lo tappezzava, sfaldato, necrotico, refrattario alla colorazione, nella cui massa spiccano qua e là elementi ematici e leucociti. Anche acini quasi interi immediatamente vicini alla linea di cruentazione, ho

visto cadere parimenti in necrosi, qualche volta conglobati da una fitta infiltrazione parvicellulare, ma tal'altra anche senza questo fenomeno concomitante.

Però nella grande maggioranza dei casi, questi residui ghiandolari reagiscono progressivamente allo stimolo rigenerativo: presso la linea di cruentazione essi mostrano già elementi più grandi, meno intensamente colorati, che hanno perduta la regolare disposizione asseriata e presentano nuclei grossi vescicolari finemente granulosi pallidi, circondati da largo alone protoplasmatico uniforme, qualche volta colpiti in istato di cariocinesi, non soltanto profondamente ma ancora nelle cellule che si spingono verso il margine libero. Quando muovono da acini collocati piuttosto profondamente si veggono procedere nel connettivo verso la superficie di sezione a guisa di brevi e grossi cordoni coi loro elementi distribuiti con una certa regolarità quasi a mosaico, più liberi nel mezzo e più stipati alla periferia.

Questi fatti progressivi avvengono in un'epoca relativamente breve, cosicchè in pezzi di due giorni, ad es., ebbi ad osservarne numerosissimi esempi; ma in questo frattempo non essendosi manifestata — come si disse — una reazione riproduttiva coordinata ed adeguata da parte del connettivo interacinoso, ne viene che l'epitelio neoprodotto non trovando una nuova trama su cui modellarsi e disporsi, si estende ai lati del focolaio da cui è sorto, a tappezzare in superficie la linea di cruentazione.

Questa dobbiamo dunque figurarcela a tal punto come occupata da altrettante isole epiteliali, provenienti da residui ghiandolari preesistenti, che estendendosi si fondono per i loro orli e la coprono in tutto o in parte con una zona epiteliare di vario spessore, i cui elementi presentano spiccatamente i caratteri dell'epitelio giovane più sù ricordati.

Mentre pertanto da parte del tessuto ghiandolare vanno svolgendosi questi fatti, anche nel tessuto connettivo si stabiliscono processi analoghi, che coi primi cooperano alla riparazione della scontinuità.

Questi hanno sede precipuamente alla periferia in rapporto colla capsula recisa o con grossi setti in essa confluenti, od ancora con qualche trabecola interacinosa che si spinge verso l'interno e che avendo perduto dalla parte periferica il suo rivestimento epiteliale, rimane essa pure scoperta.

Queste parti dello stroma messe a nudo per effetto della lesione vengono dapprincipio direttamente in rapporto col materiale che si accumula sulla ferita e perciò si trovano ricoperte da residui cellulari, da frammenti di coagulo, ma a preferenza da quella parte di tessuto adiposo preesistente che aderisce alla ferita stessa.

Ora esaminando accuratamente la linea di cruentazione in questo suo punto in cui intercede nello stroma, si avverte una infiltrazione parvicellulare del connettivo marginale preesistente, il quale si continua in una zona periferica, che già ad un esame superficiale appare diversa, perchè di colorazione più delicata e prevalentemente ematossilica anzichè picrica: essa è ricca di cellule, di cui spiccano i grandi nuclei, pallidi, finemente granulosi, vescicolari, rotondi, fra i quali notansi rare figure di cariocinesi e presenta inclusi nella sostanza fondamentale indifferenziata numerosi leucociti coi loro nuclei intensamente colorati e zolle di pigmento ematico: in una parola ci appare costituita da connettivo giovane.

Questo tessuto neoprodotto tende a portarsi dall'uno all'altro dei margini di scontinuità, appoggiandosi nel suo decorso a frammenti di coagulo che gli sono vicini e spingendosi innanzi attraverso al tessuto adiposo già ricordato in cui si immette, facendosi precipuamente strada lungo il connettivo fibrillare di esso che si vede prima infiltrarsi di piccole cellule e poi sempre più ispessirsi servendo quasi di trama al connettivo neoformato.

Questo si foggia dapprincipio a guisa di un esile tessuto a sostanza fondamentale omogenea, tuttavia ricca di nuclei rotondeggianti e di vasi, decorrente come una striscia ove più ove meno spessa, con lievi ed irregolari ondulature. Dapprincipio, a partire dal tessuto preesistente, essa si fa sempre

meno evidente e viene sperdendosi a poco a poco verso il suo margine libero, ma nei preparati in cui il processo è colpito in epoche ulteriori, essa si ritrova sempre più robusta e regolare e decorrendo tuttavia attraverso a tessuto adiposo e a residui ematici va di mano in mano individualizzandosi come fettuccia connettivale di nuova formazione che procede dall'uno all'altro dei margini della capsula recisa, ciò che ove più, ove meno chiaramente apparisce a seconda della regolarità con cui è proceduta la neoformazione.

Quello però che in qualsiasi epoca del processo risulta egualmente chiaro è che questa fettuccia decorre indipendentemente e non contrae rapporto alcuno col parenchima sottostante, su cui passa a guisa di ponte, intercedendo fra l'uno e l'altra uno spazio libero.

A questo punto pertanto il tipo fondamentale del processo è già completamente delineato; tutte le modificazioni ulteriori rappresentano fatti di perfezionamento e di adattamento del tessuto neoprodotto, ma nulla aggiungono nè tolgono alla fisionomia intima del processo riparatore.

Nel quale dunque possiamo riconoscere, considerandolo da un punto di vista schematico, due focolai distinti di neoproduzione: uno profondo e parenchimale, piuttosto limitato ed uno marginale — rispetto alla soluzione di continuo — e che ha sede principalmente nel limite di sezione della capsula; il primo procedendo dai cul di sacco ghiandolari rimasti sani addiviene alla produzione di uno strato epiteliale, dapprima individualizzato in zone che poi si fondono fra di loro, rendendolo continuo e provvede di nuovo epitelio di rivestimento quel tratto di parenchima che per effetto della lesione ne era rimasto scoperto, il secondo produce una fettuccia di connettivo che va dall'uno all'altro margine di recisione della capsula.

In merito poi ai rapporti di insorgenza e decorso di questi due ordini di fatti riparatori dobbiamo avvertire che quello del tessuto ghiandolare si inizia prima dell'altro: così in alcuni preparati mentre il nuovo epitelio è già evidente e si è già

disposto in superficie, alla neoproduzione della capsula appena accennano i numerosi nuclei connettivali che vanno infiltrando il connettivo fibrillare del tessuto adiposo.

Quanto ai fatti ulteriori di semplice adattamento — cui abbiamo accennato — descriveremo anche questi collo stesso ordine fin qui tenuto e quindi cominceremo da quelli che si svolgono in seno al nuovo epitelio, per passare a quelli del connettivo; i preparati da cui queste note sono desunte si riferiscono principalmente a prostate operate da sette, da dodici, da diciotto giorni, perchè è appunto attorno a questo periodo di tempo che tali fatti si verificano.

Anzitutto devesi notare che non tutte le striscie epiteliari neoprodotte, che vanno dai loro nidi germinativi estendendosi verso la periferia, contraggono col tessuto di impalcatura sottostante dei rapporti definitivi; alcune anzichè aderire saldamente ad esso ne restano sollevate, per cui larghi tratti di questo rivestimento epiteliale recente si trovano sfaldati ad un' estremità o del tutto liberi, accanto a residui di coagulo e detriti, nello spazio scontinuato, ove vanno incontro essi pure al disfacimento ed alla necrosi.

In quei tratti poi in cui l'epitelio aderisce esattamente allo stroma e vi rimane come produzione definitiva, gli elementi periferici vanno essi pure sfaldandosi o spontaneamente o conglobati da masse di elementi ematici, che spostandosi successivamente, per effetto di processi d'eliminazione li traggono con sè, per cui lo spessore dello strato epiteliare va facendosi più uniforme e più regolare.

Frattanto molti di quei nidi epiteliali massicci innicchiati sulla linea di cruentazione, cui si è più sopra accennato, si veggono in via di disgregazione centraie, ciò che li riconduce alla forma cava che avevano precedentemente. Gli elementi loro parietali si dispongono sempre più ordinatamente, laddove i centrali si trovano isolati e vanno incontro alla necrosi.

Queste modificazioni dell'epitelio che riflettono la disposizione generale di esso, vengono poi seguite da modificazioni nella intima costituzione delle singole cellule e nel loro modo

di aggregazione: si tratta qui di evoluzioni quasi inapprezzabili nel loro dettaglio e che portano il tipo caratteristico della cellula giovane a modificarsi progressivamente, fino a raggiungere la forma cilindrica, la proporzione e l'aspetto del nucleo e tutti quegli altri caratteri che sono proprî dell'epitelio da cui gli elementi prodotti hanno avuto origine.

Da parte del tessuto connettivo, abbiamo già assistito alla produzione di una esile striscia, ricca di nuclei rotondeggianti, che passa a guisa di ponte sulla scontinuità, riunendo i due margini della capsula.

In essa notiamo successivamente dei nuclei a tipo ovale, allungato accanto ad altri tuttavia rotondi che si vanno asseriando e allineando a guisa di cordoni e fra essi rilevasi ancora la comparsa di nuove fibro-cellule muscolari liscie. Cominciano a delinearsi con direzione orizzontale, lievemente ondulati e nel senso dei fasci preesistenti della capsula, piccoli fascetti fibrillari dapprima divisi da spazi liberi rotondeggianti che corrispondono alle areole del tessuto adiposo lungo il quale è venuto estendendosi il tessuto connettivo. Questi fascetti si fanno sempre più estesi e finiscono per fondersi dando al nuovo tratto connettivale aspetto sempre più robusto, al che contribuiscono le modificazioni nell'aspetto e nelle proprietà colorative dei nuclei e la diminuita frequenza in esso dei vasi che si veggono qua e là in grado più o meno avanzato di obliterazione.

Col progressivo individualizzarsi di questa nuova capsula si va meglio delineando fra essa ed il parenchima sottostante quello spazio libero cui si è già accennato e che sostituisce l'incisura angolare aperta verso la periferia che contrassegna nelle prime epoche del processo il tratto in cui è caduta l'escisione. Questo spazio ha generalmente una forma triangolare più o meno spiccata, di cui l'ipotenusa corrisponde alla nuova capsula e i due cateti alle superfici di cruentazione segnate nel parenchima.

Successivamente per i processi di ulteriore adattamento delle parti, l'aspetto triangolare è meno appariscente ed è sostituito

da quello di una cavità irregolarmente ovalare, schiacciata, sempre col massimo diametro in direzione trasversale.

In tale cavità si svolge a poco a poco un processo di epurazione, per cui dapprincipio essa è ingombrata da frammenti di coagulo, da striscie cellulari sfaldate, da elementi ematici isolati, da tutto quel materiale insomma che in processi di tal fatta viene ad eliminarsi, ma successivamente appare del tutto o quasi libera da presenze estranee, che sono venute mano mano trasformandosi in un detrito sempre più finemente granuloso, che a poco a poco scompare.

Per tal modo il processo riparatore si avvia a quello stadio che è l'epilogo dei due periodi dianzi accennati di neoproduzione e di adattamento, e che può considerarsi definitivo. Come tale mi apparve se non in ogni dettaglio, almeno nelle sue grandi linee, in una serie di preparazioni tolte da una prostata in cui l'escisione datava da 32 giorni e di cui credo opportuno qui di riferire un po' dettagliatamente il reperto.

Alla periferia dell'organo si rileva la presenza di una cavità irregolarmente triangolare, scavata fra gli acini e limitata all'esterno da una bendella fibrosa, esile, che figura come un tratto capsulare di nuova formazione, lievemente ombellicato nel suo mezzo.

A piccolo ingrandimento questa cavità ricorda assai davvicino una di quelle cisti che molto spesso e con particolare frequenza sotto la capsula, si riscontrano negli organi ghiandolari.

Un esame più accurato permette di riconoscere che in corrispondenza della faccia interna della nuova capsula, questa cavità non è provvista di epitelio regolare stratificato ed invece vi si notano cellule sfaldate, rigonfie, più o meno alterate. Profondamente invece la superficie della cavità predetta possiede un rivestimento epiteliale in qualche punto discontinuo, ma generalmente completo, aderente all'impalcatura connettiva e con carattere di produzione definitiva.

Esaminando bene si rileva che questo rivestimento epiteliale è in continuazione diretta con quello degli acini innicchiati nello stroma immediatamente vicino alla cavità; la comunicazione si fa talora per un ampio lume a margini arrotondati; talora invece per un punto di passaggio ristretto in cui spesso notasi del detrito granuloso quasi a guisa di zaffo. Gli acini comunicanti colla cavità

sono generalmente più piccoli degli altri e deformati in varia guisa. Anche acini immediatamente vicini a questi appaiono, per quanto meno evidentemente, deformati o globosi od allungati.

L'epitelio di rivestimento della cavità, che nei primi periodi del processo era piatto, pavimentoso, dopo aver subìto una serie di trasformazioni, si ritrova qui con aspetto cubico e disposto in istrato unico; le sue cellule riproducono interamente il tipo delle cellule adulte da cui derivano, salvo qualche dettaglio di poca entità, il loro ordinamento è invece meno perfetto di quello che si osserva nell'epitelio degli acini preesistenti.

La nuova capsula presenta un intessuto fibroso, resistente, che alla periferia è poco preciso ed ivi anzi mostra qualche sfibratura più o meno ampia; vi decorrono vasi neoformati di calibro anche notevole e fasci abbastanza regolari di fibro-cellule muscolari liscie.

Pertanto dopo quanto sono venuto esponendo è chiaro che il processo di guarigione delle feritè della prostatà, appare in base a questi reperti col tipo piuttosto di un processo di riparazione, anzichè di rigenerazione, se, anche a distanza di oltre un mese il tratto esciso è contrassegnato dall'esistenza di una cavità anomala.

Ora in materia di mancata rigenerazione è giusto chiedersi se eventualmente non si abbia preteso troppo dal potere riparatore del tessuto in esame o se realmente questo potere riparatore sia molto ristretto.

Ma, come già ebbi a dichiarare in principio, io ho la convinzione di essermi posto nelle condizioni necessarie e sufficienti per ottenere una riproduzione della parte asportata; pezzetti cuneiformi del parenchima in proporzioni anche superiori ai miei, escisero il Maffucci, il Sanfelice, il Griffini, il Podwyssozki ed altri nelle ricerche da essi istituite rispettivamente sul testicolo, sulla milza, sul fegato. Noto poi che solo producendo grandi perdite di sostanza il Ribbert nei suoi studi sulla rigenerazione della tiroide ebbe a notare che la porzione centrale del tessuto riprodotto aveva aspetto cicatrizio semplice e che lo stesso Autore ha illustrato poi uno dei più perfetti processi riparatori che si conoscano, coi suoi studi sulla rigenerazione della mammella, in seguito

ad asportazione di un terzo e perfino della metà dell'intera massa dell'organo.

Crederei piuttosto di dover attribuire l'imperfezione del processo riparatore al fatto che manchi in esso una conveniente coordinazione fra elemento neoprodotto epiteliale ed elemento neoprodotto connettivo. Se noi specialmente confrontiamo questo tipo di guarigione con quello che avviene in altri organi ad analoga struttura, vediamo che ciò che manca essenzialmente nel nostro caso è la produzione di un'area di tessuto connettivo giovane in cui potessero spingersi, eventualmente aggruppate in guisa di cordoni, le nuove cellule epiteliali, per subirvi poi tutte quelle trasformazioni che conducono al tipo della produzione ghiandolare propria.

Tale è almeno la natura del processo quale si potrebbe attendere tenendo presenti i rapporti dello sviluppo embrionale della prostata e la legge ormai indiscutibile per cui le rigenerazioni ripetono tale sviluppo.

Quanto alla ragione per cui la reazione allo stimolo è minore nel connettivo di quello che non lo sia nell'epitelio, essa potrebbe essere riposta nel fatto che per la grande prevalenza della parte ghiandolare — almeno nella prostata del cane — è anche minore il numero degli elementi connettivi di fronte a quello degli epiteliali, che possono rispettivamente servire di matrice alle nuove cellule.

Prima di chiudere sento il dovere di esprimere la mia viva riconoscenza al Prof. Bizzozero che, coll'usata cortesia, volle rivedere i miei preparati e guidarmi nella compilazione del lavoro.

Lendinara, Novembre 1899.

———

Spiegazione delle Figure.

Fig. 1. — Figura ricostruita per dimostrare i vari aspetti delle nuove produzioni ghiandolari, dopo *2 giorni* (175 diametri).

Vi si veggono due cul di sacco ghiandolari trasformati in nidi di germinazione, più o meno massicci. La ricca neoproduzione epiteliale si estende all'intorno a tappezzare la scontinuità. Lo stroma circostante è infiltrato; gli acini di esso rinnovano l'epitelio. Scarse figure di cariocinesi; la nuova capsula è appena tracciata.

Fig. 2. — Figura presa dal vero; dopo *4 giorni* (175 diamentri).

Per il delinearsi di un tratto connettivo di nuova formazione che unisce i due margini capsulari, la cavità residuata all'escisione riesce bene individualizzata nel parenchima, tappezzata di giovane epitelio irregolarmente disposto e le sue insenature corrispondono appunto a nidi di germinazione procedenti da acini preesistenti. Lo stroma è parimente, benchè in minor grado, infiltrato; negli acini circostanti perdura, per quanto attenuato il lavorio di rinnovamento dell'epitelio. Una seconda cavità più piccola, si trova in alcune sezioni di questa serie sotto alla maggiore, è rivestita di epitelio anche più irregolare e in parte invasa da cellule migratorie.

Fig. 3. — Figura presa dal vero; dopo *32 giorni* (67 diametri).

La cavità residuata all'escisione è tappezzata di rivestimento epiteliale, molto simile al normale in continuità con introflessioni che procedono da acini preesistenti. Sulla faccia interna la nuova capsula non offre, almeno nei preparati da cui è desunta la figura, un rivestimento epiteliale proprio.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 14.

Istituto di Anatomia patologica della R. Università di Cagliari.
(Prof. A. Cesaris-Demel).

SUL

SARCOMA PRIMITIVO DEL FEGATO

DEL

Prof. **Antonio CESARIS-DEMEL**

(Tav. VI)

Il fegato, che per la sua speciale struttura istologica, per i suoi rapporti è con tanta facilità sede di metastasi cancerose e sarcomatose, è, come è ben noto, solo raramente sede di neoplasie primitive. Tra queste sono più facili a ritrovarsi le neoplasie di natura epiteliale, sia che derivino dagli epiteli dell'apparato biliare, sia che derivino dalla cellula epatica stessa.

Più rare sono le neoproduzioni maligne di natura connettivale, i sarcomi, che si originano primitivamente dal fegato e sono infatti molto scarsi i casi di questa natura che si trovano descritti.

La scarsità dipende certamente anche dal fatto, che molte di queste neoplasie non furono un tempo riconosciute nella loro natura e furono erroneamente ritenute di natura epiteliale.

Se consideriamo poi d'altra parte, come nella descrizione del sarcoma del fegato non ci sia ancora un accordo sicuro sulla sua istogenesi, sul suo andamento, sulla sua fine struttura istologica, vediamo come sia molto utile il portare un contributo di casistica a questo studio, per ampliare le nostre

conoscenze in questo argomento che presenta ancora tanti punti oscuri e controversi. Uno dei primi lavori, a questo riguardo, attendibile e specialmente interessante per la sua estesa parte critica è il lavoro di Arnold (1). Questo autore infatti osserva, come, sopra ventisei casi precedentemente descritti di sarcomi primitivi del fegato, due erano evidentemente dei fibromi, uno un mixoma, altri rappresentavano manifestazioni tubercolari o leucemiche, altri infine, come quelli descritti da Samuel Gee (2), W. Pepper (3), Koltmann (4) e Hall White (5) si dovevano ritenere carcinomi. Altri casi infine, pur essendo di indubbia natura sarcomatosa, si poteva ritenere fossero la semplice espressione di una localizzazione secondaria e non di una manifestazione primitiva, ad esempio alcuni tumori melanotici provenienti da sarcomi melanotici primitivi dell'orbita e il caso di Wagner (6) che probabilmente derivava dalle ghiandole mesenteriche e quello di Pellacani (7), che forse proveniva da un tumore primitivo dello speco vertebrale. Nei due casi invece riportati da Arnold la natura sarcomatosa e lo sviluppo primitivo dal fegato sono indubbiamente dimostrati. Nel primo caso si tratta di un giovane di 15 anni venuto a morte dopo tre mesi di malattia. Già in vita con una puntura esplorativa si era diagnosticato il tumore, ma lo si riteneva metastatico. All'autopsia invece si trovò il fegato enormemente ingrossato e specialmente a spese del lobo destro, bernoccoluto e d'aspetto neoplastico grigio roseo, mentre il lobo sinistro era illeso. La vena epatica era zaffata completamente dal tumore, il quale del resto si presentava unicamente localizzato a quest'organo, non trovandosi a distanza alcuna metastasi. All'esame istologico dimostrò la strut-

(1) Arnold, *Ziegler's Beiträge*, Bd. VIII, 1890, p. 123.
(2) Samuel Gee, *St. Barth. Hosp. Rep.*, Bd. VII, 1871.
(3) W. Pepper, *Soc. of. Philad. med. Times*, 1873.
(4) Koltmann, *Correspondenzbl. d. Schweizer Aerzte*, 1873.
(5) Hall White, *Transact. of the Pathol. Society London*, XXXVII, 1886.
(6) Wagner, *Gherhard Kinderkrankeiten*, IV, 80, 1865.
(7) Pellacani, *Riv. clin.*, Bologna, 1880.

tura tipica dell'angiosarcoma alveolare; infatti si avevano cumuli rotondi o longitudinali di cellule stratificate intorno a spazi rivestiti di endotelio. In alcuni punti il sarcoma aveva prevalentemente la forma tubulare. Il centro però dei singoli nodi si presentava in istato di necrosi anemica, in degenerazione grassa e ialina, specialmente nella circonferenza dei vasi. Secondo Arnold questo tumore sarebbe originato dalla guaina perivascolare, con accumoli di cellule giovani trasformate poi in catene ed accumoli di cellule sarcomatose. La maggior diffusione poi del tumore si trova in dipendenza della immissione delle masse neoplastiche nel lume dei vasi stessi. Il tessuto neoplastico è attraversato da zone di connettivo giovane ricco di vasi sanguigni e di dotti biliari.

Nel 2° caso di Arnold invece, si trattava di un uomo di 53 anni, itterico, con abbondante idrope ascite, dapprima semplicemente sierosa, poi emorragica. All'autopsia si trovò il fegato notevolmente ingrossato, tutto il lobo destro bernoccoluto d'aspetto neoplastico (al taglio bianco-molle, midollare, con aree gialle necrotiche) e solo pochi nodi superficiali nel lobo sinistro. Nodi multipli metastatici, grossi come piselli sul mesenterio e sulla sierosa viscerale, e un nodo metastatico sporgente nel lume della vena cava inferiore. In questo caso, tanto la struttura del nodo principale, come quella dei molteplici nodi metastatici era identica. Si aveva sempre un grande accumolo di cellule attorno ai vasi, che a poco a poco si facevano fusate e si trasformavano in cellule sarcomatose. Nei più grossi accumoli di cellule fusate si scorgeva anche qualche rara cellula gigante polinucleata. Anche in questo caso, grandi ammassi cellulari, in cavità rivestite di endotelio, dimostravano come il tumore tendesse a diffondersi nell'interno dei vasi. I sepimenti connettivi che già macroscopicamente si scorgevano, risultavano di tessuto connettivo iperplastico, in forma di tessuto di granulazione, ricco di vasi con molti dotti biliari neoformati. I limiti tra il neoplasma e il tessuto epatico non erano netti, ma le cellule neoplastiche fusate, nei confini, si alternavano colle cellule epatiche più o meno alterate. Il pa-

renchima epatico non era degenerato in grasso ma profondamente itterico.

Anche questo caso si deve diagnosticare, secondo Arnold, come un angiosarcoma.

Dello stesso tipo è il caso descritto da Windrath (1) che riguardava un giovane con anamnesi ignota. Il fegato era ingrossato ma non molto deformato. Il neoplasma era bernoccoluto, a nodi di varia forma, poco rilevati, e di color verdastro ben delimitati dal parenchima epatico. I grossi vasi e la cistifellea erano liberi. Non si aveva alcun nodo metastatico a distanza. All'esame istologico il tumore si presentò costituito a preferenza da cellule fusate, disposte a fasci in tutte le direzioni e mentre alla periferia dei nodi formavano delle pseudomembrane, all'interno dei noduli avevano disposizione alveolare. I confini del tumore, anche istologicamente, si mostravano per lo più netti. Solo in qualche punto si infiltravano tra le cellule epatiche quasi a simulare una epatite interstiziale. Il tessuto connettivo involgente i tre vasi interacinosi era iperplastico, omogeneo, vitreo, con una manifesta infiltrazione di cellule fusate che si originava dagli strati esterni della arteria epatica dalla quale appunto si dimostrava originare il tumore. E in questa arteria, non si aveva solo una neoproduzione delavventizia, ma talora anche una protrusione nel lume del vaso o un vero zaffamento neoplastico. Così l'accrescimento del tumore avveniva o per apposizione di minimi nodi o per propagazione nei capillari. Nel primo caso si avevano limiti netti tra neoplasma e tessuto epatico, nel secondo caso, infiltrazione.

Ruyter (2) poi descrive molto succintamente un caso di sarcoma primitivo del fegato trovato in un bambino di 10 giorni. In questo caso il fegato era completamente sostituito dal neoplasma che aveva consistenza dura, superficie omogenea e al taglio aspetto granitoide emorragico. Si aveva un nodo metastatico alla capsula surrenale di destra.

---

(1) Windrath, Inaug. Dissert. Freiburg, 1885.
(2) Ruyter, *Langebeck's Arch.*, Bd. 40, 1890, p. 95.

Istologicamente il tumore si mostrò costituito di cellule rotonde con raro tessuto connettivo fusato, ricco di vasi, a cellule linfoidi, da simulare un sarcoma alveolare. In questo caso non fu possibile dimostrare l'origine perivascolare degli elementi sarcomatosi. Troviamo ancora un caso descritto da Hetzel (1) di sarcoma primitivo del fegato in un vecchio di 71 anno. Il fegato era enormemente ingrossato, il bordo arrotondato, superficie scabrosa, tutto invasò da nodi neoplastici di color bruno gialliccio da dare un aspetto granitoide. Alla superficie del taglio si poteva raschiare un succo verdastro composto di cellule di varia forma, prevalentemente fusate. In molti punti esistevano concrezioni biliari.

Il tumore aveva la struttura tipica del sarcoma aveolare, composto di un tessuto fibrillare, reticolato, delimitante dei grossi alveoli ricchi di cellule, in gran parte tinte in giallo bruno, e piene di piccoli grani di pigmento bruno. Le cellule epatiche si mostravano ingrossate, con un nucleo fortemente tingibile, ed alcune anche contenenti due nuclei. Anche in questo caso non à discussa o dimostrata l'origine vascolare del tumore. Ricordiamo da ultimo il caso descritto da Kalden (2) il quale riguardava un uomo di 32 anni che venne a morte con imponente idrope ascite ed ittero. Il fegato era molto ingrossato e sulla sua superficie si notavano delle parti aventi bianchezza midollare, altre gialliccie con rientranze ombellicate. La cistifellea presentava una parete ispessita, gialliccia, ed era contornata da molteplici nodi neoplastici. Alla superficie del taglio si avevano molti nodi confluenti. Il tessuto epatico conservato si presentava scuro per stasi sanguigna. All'esame istologico si vide trattarsi di un sarcoma rotondo cellulare con pochissimo stroma e in qualche punto presentava anche cellule giganti con 5-6 nuclei, non però in numero tale da poter descrivere il sarcoma in totalità come gigante cellulare. I nodi marginali del tumore avevano struttura più distinta-

(1) Hetzel, « Ein Fall von Melanosarkom der Leber », Erlangen, 1895.
(2) Kalden, *Ziegler Beitr.*, Bd. XXI, p. 264.

mente alveolare e simili a quelli descritti da Arnold. Anche Kalden fa derivare questo tumore, quantunque la cosa non sia nettamente dimostrata e dimostrabile, dagli elementi della parete dei piccoli vasi.

Anche in questo caso l'accrescimento dell'angiosarcoma dipese dall'aumento di volume delle singole parti e dall'invasione di vasi di nuova formazione ed invasione neoplastica nel lume dei vasi stessi, con conseguente stasi nel rimanente parenchima epatico. Anche in questo caso infine si ebbe una estesa infiltrazione di briglie connettive nel tessuto epatico, come se queste si fossero formate prima dello sviluppo del tumore. Kalden poi ritiene che si debbano ritenere per sarcomi primitivi del fegato, due casi citati da Arnold e da questi giudicati come carcinomi, e come si debbano ascrivere ai sarcomi alveolari del fegato, un caso descritto da Roberts, ai fusi cellulari il caso di Pellacani, e ai sarcomi phyllodi quelli descritti da Rehn (1), Wessert, Wagner, Hoerup (2) e Parker (3).

I moderni trattatisti poi nel capitolo speciale risguardante le neoplasie epatiche hanno poche e succinte notizie relativamente al sarcoma del fegato e lo dicono semplicemente molto raro o citano qualcuno dei casi sopraricordati.

Da alcuni poi si va ripetendo che il sarcoma primitivo del fegato sia specialmente reperibile nell'età giovanile e sia con tutta frequenza congenito. Certo la statistica che estesamente abbiamo esposto non può confermare questo enunciato. Noi vediamo invece come questo tumore si possa riscontrare in qualunque età, dalla primissima infanzia all'uomo adulto. Vediamo ancora come la sua sintomatologia sia diversissima, come possa essere accompagnato o no da idrope o da ittero e come macroscopicamente sia sempre più specialmente inte-

---

(1) Rehn, « Verhandlung der fünften Versammlung der Gesellschaft für Kinderheilkunde », 1867.

(2) Hoerup, *Hospitals Tidende*, Jahrg. X, N. 1, 1867.

(3) Parker, *Transact of the Pathological Society London*, vol. XXXI, 1888, S. 290.

ressato il lobo destro, e meno interessato o assolutamente risparmiato il sinistro. Vediamo anche che se l'aspetto granitoide dei suoi noduli è il più frequente, può anche assumere aspetto midollare al tutto simile a quello che si ha frequentemente nel cancro e che difficilmente ha limiti netti, ma facilmente invece nei confini gli elementi neoplastici infiltrano divaricandolo il parenchima epatico. Vediamo anche che se le metastasi sono rare, sono pur state osservate (mesenterio, intestino, capsula surrenale, ecc.) e infine come la sua origine sia nel maggior numero dei casi perivascolare e quindi il tumore appartenente alla categoria degli angiosarcomi.

Il caso invece che forma argomento di questo studio si scosta un po' dalle regole generali sopra esposte e perciò l'ho ritenuto degno di nota.

Si tratta di un individuo, certo C. D. di anni 67, venuto a morte nell'Ospedale Civile di Cagliari il 9 marzo 1900. L'autopsia, fatta in questo Istituto di Anatomia patologica, 24 ore dalla morte, diede il seguente reperto:

Rigidità cadaverica scomparsa. Ventre tumido protrudente. Alla parte inferiore sinistra del torace colorazione verdastra.

Costituzione scheletrica regolare.

Scarsa la nutrizione. Flacide le masse muscolari e assottigliata la cute. Ecchimosi recenti sottocutanee visibili alla faccia anteriore dell'avambraccio di sinistra e al dorso della mano destra. Edema ai malleoli ed al dorso delle mani. Ernia inguinale sinistra. Calotta cranica di forma e volume regolare.

Cervello. Dura madre di tensione normale leggermente opacata. Ateroma intenso delle arterie della base.

Configurazione esterna del cervello regolare. Pie meningi trasparenti. Edema della sostanza cerebrale che si presenta diffusamente anemica e lucida. Leggermente dilatati i ventricoli laterali con discreta quantità di liquido citrino. Ependima ventricolare levigato. Aperta la cavità addominale ne fuoresce una abbondante quantità di liquido citrino, trasparente, che si può grossolanamente valutare a 5-6 litri. Raccolto in un bicchiere lo si trova completamente trasparente e privo di elementi in sospensione.

Le anse intestinali si presentano mediocremente dilatate da gas; il peritoneo nelle sue lamine parietale e viscerale presenta una

punteggiatura nerastra da residui di antiche emorragie. Sul peritoneo viscerale sono visibili noduli d'aspetto neoplastico del volume da un pisello ad una nocciuola, duri alla compressione. Anche sulla lamina parietale si trovano di questi nodi neoplastici cogli stessi caratteri. Non esistono aderenze tra le anse intestinali. L'epiplon è retratto e privo di grasso. Il margine inferiore del lobo destro del fegato deborda di 4 dita trasverse dall'arcata costale e si presenta irregolarmente bernoccoluto. Lo stomaco è retratto. La vôlta del diaframma a sinistra arriva nei limiti normali, a destra alla 4ª costola.

Aperta la cavità toracica si trova l'area cardiaca scoperta, aumentata in estensione a spese del polmone sinistro, retratto. I margini polmonari sono liberi d'aderenze al mediastino.

Nella cavità pleurica di destra esiste una certa quantità di liquido rossigno (circa 50 grammi).

Aperto il sacco del pericardio vi si trova poco liquido citrino.

Cuore libero da aderenze, contratto, di volume normale. L'epicardio presenta sulla sua faccia posteriore delle placche tendinee. Il grasso sottoepicardico è scomparso e le coronarie cardiache sono tortuose, dure e calcificate. L'apice è formato dal ventricolo sinistro.

Aperto il ventricolo sinistro, vi si nota ateroma incipiente dell'arco dell'aorta. Le semilunari aortiche sono normali. Normale è l'orificio della mitrale. L'endocardio ventricolare è levigato e si ha leggiera ipertrofia concentrica della parete.

Il cuore destro ha trabecolatura esile, endocardio levigato, nulla di valvolare. Le coronarie cardiache aperte dalla loro origine, per un bel tratto del loro decorso, presentano molteplici placche ateromatose in gran parte calcificate, sono però perfettamente pervie. Il muscolo cardiaco leggermente bruno è robusto e tagliato a tutto spessore, non mostra alcun focolaio anemico e miomalacico.

Il polmone sinistro è libero da aderenze, di volume ridotto. Areato nella parte alta, poco areato alla base per ipostasi. Sotto alla pleura esistono dei nodi neoplastici della grossezza al massimo di una nocciuola, rivestiti da pleura opacata. Al taglio questi noduli sono consistenti, hanno aspetto biancastro variegato. Le ghiandole peribronchiali all'ilo sono piccole, mediocremente antracotiche. Normale l'albero bronchiale.

Il polmone destro, per un' area del diametro di circa quattro centimetri è tenacemente aderente colla parte mediana, nella sua faccia inferiore, al diaframma ed è uniformemente compresso per l'innalzamento del diaframma stesso ed il leggiero versamento pleurico, e quindi è leggermente atelectasico. Anche in questo polmone

si trovano scarsi nodi neoplastici piccoli, disseminati nel parenchima e più specialmente sotto pleurici, coi caratteri simili a quelli descritti nel polmone sinistro. Solo alla base del polmone, in corrispondenza dell'aderenza al diaframma, esiste una piastra neoplastica che si approfonda per circa due centimetri nel parenchima e fa corpo col diaframma infiltrato. Anche questo polmone presenta i gangli peribronchiali piccoli e leggermente antracotici.

La milza è ridotta di volume, e di forma regolare. La capsula è notevolmente ispessita, ha aspetto biancastro e presenta delle calcificazioni parziali. La polpa è scarsa, rosso scura ed è molto evidente l'apparato trabecolare. L'arteria splenica è ateromatosa, completamente rigida e calcificata. Aperto lo stomaco e l'intestino nella sua totalità, si trova una colorazione ardesiaca diffusa della mucosa gastro duodenale che si presenta in leggiero stato mammellonato. Il rimanente della mucosa intestinale è normale. Sotto alla sierosa dell'intestino esistono molteplici nodi neoplastici. Nessuno di questi però arriva ad interessare tutte le tonache intestinali fino a protrudere sulla mucosa. Anche sull'epiplon sono numerosi i nodi neoplastici i quali vi assumono un aspetto fibroso, compatto e al taglio sono bianco lucenti. Nodi simili si hanno tra le due lamine del mesenterio, i quali pure sono assolutamente indipendenti dalle ghiandole linfatiche, che vi si trovano piccolissime, appena visibili. Anche il plesso delle ghiandole linfatiche prevertebrali è di aspetto assolutamente normale.

Il rene sinistro è nella sua sede normale. Il rene destro è notevolmente spinto in basso dal neoplasma del fegato.

I reni hanno volume normale, consistenza aumentata, capsula facilmente svolgibile, superficie esterna levigata con piccole cisti corticali a contenuto limpido. Al taglio si nota una colorazione omogenea pallida delle due sostanze poco differenziabili tra di loro. La sostanza corticale è leggermente ridotta. Le capsule surrenali sono normali.

Il pancreas è nella sua sede normale, completamente indipendente dal neoplasma e presenta alla superficie del taglio una struttura acinosa regolare.

Il fegato è tenacemente aderente alla faccia inferiore del diaframma e le aderenze si devono sciogliere col coltello per poter esportare l'organo. Il fegato è notevolmente aumentato di volume a spese del suo lobo destro, mentre il lobo sinistro ha volume normale. Il lobo destro è completamente trasformato in una massa neoplastica bernoccoluta, di colore biancastro, sulla quale si hanno piccole chiazze emorragiche recenti, rosse, chiazze emorragiche antiche, nerastre, e striature verdastre. Si ha così complessivamente

un aspetto granitoide. I nodi neoplastici più voluminosi si trovano sulla vôlta dell'organo, mentre al margine sinistro del lobo destro e specialmente alla faccia inferiore dell'organo, i nodi, per quanto confluenti, sono piccoli. Il lobo sinistro del fegato presenta anche dei rari nodi sottosierosi biancastri, ma non rilevati e della grossezza da un pisello ad una nocciuola. La cistifellea è quasi vuota di bile, ha la parete uniformemente ispessita che presenta nel suo spessore molteplici nodi neoplastici piccoli che però non arrivano fino alla mucosa. Tagliando a tutto spessore il lobo destro del fegato si trova che il neoplasma lo occupa quasi totalmente e solo al margine sinistro del lobo destro esiste ancora una sottile zona di tessuto epatico. Alla parte centrale, e partente dall'ilo, esiste un nodo calcificato della grossezza di un uovo di gallina, contornato da una larga zona di tessuto necrotico scolorato, che si continua con un tessuto lardaceo compatto che più all'esterno ancora ed arrivando alla superficie dell'organo si dimostra costituito dai varî nodi neoplastici confluenti d'aspetto granitoide.

Alla sezione del lobo sinistro si vede come i nodi neoplastici siano esclusivamente corticali, come il periepate sia diffusamente ispessito e i nodi vi siano direttamente applicati come goccie pendenti. Questi nodi non hanno il centro mortificato, ma sono d'aspetto bianco roseo, ed hanno margini netti nel parenchima epatico circostante. Nel lobo destro invece, i confini tra il neoplasma e la sottile zona di tessuto ancora conservato sono meno netti e determinati.

La faccia inferiore del diaframma, nella sua metà destra, presenta moltissimi nodi neoplastici, di varie dimensioni, i più, grossi come nocciuole, taluni leggermente ombellicati, d'aspetto biancastro-fibroso. Il tessuto muscolare del diaframma è quasi completamente sostituito da un denso strato di tessuto fibroso. I vasi venosi all'ilo del polmone sono completamente pervii, e liberi da invasione neoplastica. Aperta l'aorta toracica ed addominale vi si trovano poche placche ateromatose non ancora ulcerate e specialmente localizzate all'origine dei vasi. Vescica e prostata normale.

Il canale inguinale di sinistra è pervio e comunica con un ampio sacco erniario vuoto. La superficie sierosa interna del sacco, presenta pure dei nodi neoplastici simili a quelli riscontrati sul mesenterio e sull'intestino. Nulla di notevole ai testicoli.

Esportati i bulbi oculari e sezionati lungo il piano equatoriale, si mostrano assolutamente normali, come è normale il contenuto e la disposizione della cavità orbitaria.

Il corpo tiroide è piccolo, ha forma e disposizione regolare e

presenta il parenchima omogeneo, succoso. Lo scheletro pure, esaminato accuratamente, non presenta traccie di affezioni antiche o recenti. La colonna vertebrale esaminata anteriormente e posteriormente ha direzione normale ed è assolutamente ben formata.

Nulla di notevole in faringe, laringe e trachea.

Riassumendo, le principali lesioni anatomiche riscontrate in questo caso, si possono dividere in due gruppi: Lesioni vascolari scarsissime, specialmente localizzate alle coronarie cardiache e all'arteria splenica, e lesioni neoplastiche costituite dal grosso tumore al fegato, con nodi neoplastici ai polmoni, diaframma e mesenterio.

Dalle notizie cliniche ho potuto ricavare come la morte era avvenuta con fenomeni cardiaci e le lesioni riscontrate nell'apparato vascolare del cuore ce ne dànno ragione. La paralisi cardiaca certamente poi fu facilitata dal grave stato di marasma al quale il neoplasma aveva condotto l'organismo.

Da questo caso ho raccolto subito, accuratamente, varî pezzetti del neoplasma, prendendoli dalle varie regioni del fegato e dai varî nodi metastatici e pezzetti dei varî visceri, fissandoli in alcool, in liquido del Müller, nel liquido di Foà, Flemming, Hermann, ecc.

Ho esaminato subito a fresco per dilacerazione e il neoplasma epatico e i nodi sia colla soluzione semplice fisiologica di NaCl, sia coll'aggiunta di qualche goccia di bleu di metilene. Dilacerando il tumore del fegato nella sua parte periferica dove il tessuto appariva di più recente formazione, l'ho trovato formato quasi esclusivamente di elementi fusiformi con un nucleo grande allungato e pochissimo protoplasma e questo disposto specialmente ai poli della cellula. Tra questi elementi se ne trovavano anche di rotondeggianti a nucleo vescicoliforme, con discreta quantità di protoplasma circostante, e qualche raro elemento anche in cariocinesi o polinucleato. Si notavano poi scarsi leucociti e una discreta quantità di globuli rossi. Nessuna cellula epatica.

Dilacerando invece il tessuto ai limiti del tumore, le cellule

fusate si alternavano agli elementi epatici che presentavano molteplici goccioline adipose e granuli di pigmento. Alcune di queste avevano anche contorno indistinto e nucleo vescicoliforme.

Esaminando invece i nodi metastatici del mesenterio, della lamina viscerale del peritoneo, del diaframma e i sottopleurici, che come abbiamo ricordato si presentavano più duri e di aspetto fibroso, li trovai composti esclusivamente di elementi fusati, più lunghi e più sottili di quelli già descritti nel fegato e solo eccezionalmente qualche elemento mononucleare rotondeggiante.

L'esame istologico del neoplasma (dei pezzi raccolti e inclusi in paraffina e colorati coi soliti metodi in uso per queste ricerche) varia leggermente a seconda del punto esaminato e più precisamente si ha una differenza sensibile tra il tessuto succoso-molle dei nodi evidentemente giovani e da poco formati e i nodi più adulti aventi struttura fibrosa compatta.

Nei nodi giovani si trova alla periferia un tessuto fascicolato, in cui gli abbondanti elementi cellulari fusiformi hanno una disposizione tra loro parallela, quasi a formare una membrana. Questi elementi fusati hanno un nucleo allungato e poco protoplasma e corrispondono agli elementi fusati già descritti nell'esame per dilacerazione. Mano a mano invece che ci avviciniamo al centro del nodulo questi elementi fusati non sono più disposti a fasci paralleli, ma variamente intrecciati tra loro, e tra questi compaiono delle cellule rotonde a nucleo vescicoloso, povero di cromatina, con abbondante protoplasma. In una zona ancor più centrale gli elementi fusati vanno mano mano facendosi più rari, prevalgono gli elementi rotondeggianti i quali si fanno più grandi e contengono più nuclei, fino a costituire delle vere cellule giganti. Tra questi elementi rotondeggianti mononucleati e le cellule giganti, si hanno elementi pure rotondeggianti il cui nucleo è in piena attività cariocinetica.

Alcune figure cariocinetiche interessano degli elementi rotondi piccoli e presentano, o delle forme a gomitolo intensa-

mente colorate, o dei diaster coi fusi acromatici distintamente discernibili e di forma assolutamente regolare. Alcune presentano già lo strozzamento mediano e si hanno due nuclei ancora fortemente colorati ai poli dell'elemento cellulare strozzato. Altre figure cariocinetiche, interessano dei grossi elementi rotondeggianti a protoplasma abbondante e queste sono molto irregolari e corrispondono alle forme di cariocinesi anomale descritte ora da Hansemann nei tumori. Si hanno così forme a stella, ad ipsilon, a croce, e non si può mai vedere una distinta compartecipazione del protoplasma alla scissione cellulare. Da queste figure cariocinetiche anomale hanno così origine le molteplici cellule giganti ricordate e se ne possono seguire agevolmente le varie forme di passaggio.

Queste cellule giganti poi presentano svariatissime forme. Dove gli elementi sono meno stipati e le cellule sarcomatose non hanno ancora la disposizione fascicolata, sono distintamente rotondeggianti. I nuclei appena formati sono piccoli e intensamente colorabili, poi mano mano si fanno vescicoliformi, sempre più poveri di cromatina e si dispongono in vario modo. O sono addossati, quando sono molto numerosi, quasi a formare un ammasso moriforme nel quale i contorni dei singoli nuclei componenti non sono più discernibili, o sono disposti a corona con uno spazio centrale scolorato, o a ferro di cavallo, da ricordare la forma simile tanto frequente nei noduli tubercolari, o ad ammassi irregolari, di cui non è agevole descrivere la disposizione.

Mano mano poi che gli elementi fusiformi sarcomatosi si vanno addensando e disponendosi in serie fascicolate, anche questi elementi polinucleati seguono la direzione degli altri, si appiattiscono, si allungano e così si arriva a cellule giganti allungate con 8-10 nuclei tutti disposti a fascio nella stessa direzione, e col protoplasma cellulare addensato specialmente ai poli.

Anche gli elementi rotondeggianti più piccoli, il cui rapporto cogli elementi endoteliali dei vasi, in qualche punto è manifesto, possono condurre alla formazione di cellule poli-

nucleate allungate. E questo modo di produzione è già noto e descritto e sappiamo dipende dalla irritazione dell'endotelio dei minutissimi vasi, i quali in parte occlusi per invasione neoplastica nel lume, in parte schiacciati per compressione laterale, reagiscono proliferando e raggruppandosi a formare queste cellule giganti fusate. Nel nostro caso queste sono più scarse e più piccole di quelle derivate dalle cellule sarcomatose.

Gli elementi fusati e rotondi, le cellule cariocinetiche, le cellule giganti, sono sostenute da uno stroma esilissimo reticolato con cellule scarse allungate e stellate.

Questo stroma si fa più compatto e più evidente dove la struttura del neoplasma si fa fascicolata e gli elementi cellulari neoplastici sono più stipati e si può mettere agevolmente in rilievo colla colorazione elettiva del connettivo colla fucsina, adoperando la soluzione di Van Gieson.

Il centro del nodulo è povero di vasi, vi si vedono scarsissimi capillari in gran parte compressi e che si lasciano a mala pena distinguere per i residui filiformi del loro endotelio. Altri capillari presentano come abbiamo già detto il loro endotelio in attiva proliferazione a formare le descritte cellule giganti.

Alla periferia del nodulo, quando questo confina col tessuto epatico, e dove il tessuto epatico è come vedremo infiltrato dal neoplasma, si vedono dei vasi sanguigni più cospicui. Alcuni hanno forma e disposizione regolare, altri presentano delle soluzioni di continuo nella loro parete e ne sussegue una diffusione emorragica tra le cellule sarcomatose e le trabecole epatiche; altri infine più dilatati si trovano completamente zaffati da ammassi di cellule sarcomatose. Dove lo zaffamento è recente, l'endotelio conservato, colla sua disposizione circolare, delimita l'iniezione neoplastica, dove invece è antico, l'endotelio è scomparso e possiamo giudicare della preesistenza del vaso, dalla forma circolare del zaffo composto di elementi rotondeggianti o fusati, zaffo incuneato nel parenchima epatico o posto nel connettivo interacinoso proprio del fegato stesso.

Nei casi descritti, il zaffo sarcomatoso per la forma e la dispo-

sizione dei suoi elementi si mostra assolutamente indipendente dall'endotelio vasale, e si può assolutamente escludere ne sia una derivazione. Non si trova nessun segno di proliferazione da parte dell'endotelio e nessuna forma cellulare di passaggio tra la cellula endoteliale e la sarcomatosa.

Similmente nell'esame del nodo neoplastico non si trova alcun rapporto tra il peritelio vascolare e gli elementi neoplastici e se pur alcuni vasi ne sono completamente circondati, questi non sono così uniformemente addensati e in regolare ordine disposti, parallelamente alla parete del vaso stesso, come si ha nei casi in cui il sarcoma derivi appunto da una proliferazione degli elementi periteliali; similmente non si trovano mai nel campo dell'osservazione disposizioni cellulari a nodi di strati concentrici, tanto da dare l'illusione di una struttura alveolare, in cui il centro dell'alveolo sia rappresentato dal lume del vaso, dalle cui pareti il nodo sarebbe originato, come si ha sempre quando questi tumori abbiano tale origine. Il parenchima epatico solo in piccoli tratti termina a limite netto col tessuto neoplastico e questo avviene quando sia separato da un tramezzo connettivo residuante dal tessuto connettivo interacinoso del fegato. Altrimenti il neoplasma mostra una zona di infiltrazione piuttosto estesa in cui le cellule sarcomatose sono frammiste alle cellule epatiche. Per questa infiltrazione neoplastica le cellule epatiche sono divaricate, staccate e variamente deformate.

Andando dal parenchima illeso al neoplasma, noi troviamo che dapprima la trabecolatura epatica si mostra solo leggermente compressa, poi l'assottigliamento si fa più manifesto e cominciano a presentarsi delle spaccature nelle trabecole fino ad aversi dei tratti di trabecole distaccati. Questi possono avere le forme più svariate. O tratti longitudinali di parecchie cellule epatiche riunite, o frammenti stellati o a croce, ecc. fino ad arrivare a cellule completamente isolate. Alcune di queste conservano ancora la loro forma regolare, altre sono alterate e presentano il protoplasma rigonfiato e con vacuoli, o eroso nei suoi contorni. Il nucleo di queste cellule conserva

a lungo la sua forma regolare e la sua spiccata colorabilità e perciò si può sempre facilmente distinguere dai nuclei vescicoliformi meno colorati delle cellule epatiche. In preparati di pezzi fissati in sublimato o in liquido Foà, in cui la colorazione nucleare sia ottenuta con una tenue soluzione di ematossilina in cloralio, e la colorazione protoplasmatica di contrasto colla lunga permanenza in una soluzione acquosa diluitissima di eosina, si ottengono immagini specialmente dimostrative per questa differenziazione. Infatti i nuclei delle cellule epatiche restano intensamente colorati in violetto, i nuclei vescicolari delle cellule sarcomatose leggermente colorati in violetto, il protoplasma delle cellule sarcomatose quasi scolorato, quello delle cellule epatiche distintamente colorato in rosa e i globuli rossi del sangue in rosso vivo. Così colorando, anche la zona d'infiltrazione si può studiare in tutti i suoi dettagli, perchè sopra il fondo scolorato neoplastico, spiccano le trabecole staccate e le cellule epatiche isolate colorate in rosa.

Le cellule epatiche in questo fegato presentano un notevole accumolo di pigmento biliare nel loro protoplasma. Da questo ne viene, che usurandosi il protoplasma, ne residua alle volte, a significare la cellula epatica staccata e perduta, un piccolo accumolo di pigmento, vicino ad un nucleo ben colorato e talora il pigmento solo isolato. Nei pezzi fissati all'acido osmico (Flemming e Hermann) si vede come il tessuto epatico a distanza dal tumore abbia una appena incipiente degenerazione grassa che aumenta di poco il contenuto fisiologico adiposo della cellula epatica; mano a mano invece che ci avviciniamo al tessuto neoplastico e che le trabecole epatiche sono compresse o comunque alterate, vi aumenta il contenuto di grasso ed aumenta ancora negli elementi completamente staccati, dove le goccioline di grasso si fondono in gocciole più grosse fino ad occupare tutta la cellula, mascherandone il nucleo o spostandolo alla periferia. Anche in questi preparati a piccolo ingrandimento, la disposizione e i rapporti dei tessuti della zona marginale di infiltrazione neoplastica è ben

distinta e le cellule adipose, nere, stanno ad indicare l'estremo limite fin dove arrivano gli elementi epatici staccati. In altri nodi neoplastici il confine col tessuto epatico è diverso. Si osserva talora come uno sperone di cellule epatiche, cuneiforme che si insinua a tutto spessore nel neoplasma stesso. Alla base dello sperone la trabecolatura epatica ha un aspetto reticolare a maglie larghe per un evidente assottigliamento delle cellule epatiche stesse; progredendo, le trabecolature vanno formando maglie sempre più allungate e tutte nella stessa direzione longitudinale, fino a ridursi ad un vero fascio di trabecole sottili, parallele, di tessuto epatico con rarissime anastomosi trasversali. Si ha quasi l'impressione in questi casi, a piccolo ingrandimento, di vedere un fascetto di fibre muscolari in cui la caratteristica striatura trasversale sia scomparsa. Anche in queste trabecole deformate si trova un denso accumolo di pigmento, e si fa manifesta una intensa degenerazione grassa. In altri punti ancora si trovano delle zone sottili di parenchima epatico, compresso tra il tessuto neoplastico e un tramezzo connettivo interacinoso.

Esaminando pezzi di tumore presi a distanza dai confini, dove non si trova più traccia di tessuto epatico, dove macroscopicamente si aveva un aspetto lardaceo leggermente roseo, si trova che la struttura fibrosarcomatosa si fa più distinta, le fibrocellule sarcomatose fusate sono variamente intrecciate, non si trovano più elementi cellulari rotondeggianti e tanto meno figure cariocinetiche. Le cellule giganti sono scomparse e si trovano solo delle cellule polinucleate fusate che seguono il decorso parallelo dei fascetti di fibrille. Anche in questo punto il tessuto è poverissimo di vasi, non si vedono infiltrazioni emorragiche e in nessun punto il tumore assumendo forma alveolare può far supporre la sua origine dall'apparato vascolare.

In questa zona si vedono già tratti di tessuto in via di mortificazione, dove i contorni cellulari si fanno meno netti, ed i nuclei si vanno frammentando e riducendo ad ammassi informi di cromatina. Nella parte più centrale del tumore dove

questo era anche in parte calcificato, la mortificazione è completa e nessun elemento vi è più differenziabile.

Abbiamo veduto come nel lobo sinistro del fegato i nodi neoplastici fossero assai scarsi e puramente corticali e si approfondassero nel parenchima come goccie pendenti dalla ispessita capsula connettiva.

All'esame istologico, il connettivo della capsula si trova notevolmente ispessito, ricco di nuclei allungati, e su di questo si trovano per una diretta proliferazione dei suoi elementi i nodi neoplastici descritti. Questi elementi da sottili si vanno facendo più grossi e più corti; il nucleo si fa meno allungato, vescicoliforme e meno colorabile, e gli elementi stessi più abbondanti e più avvicinati. Questi nodi neoplastici, per essere di recente formazione, presentano pure una attiva proliferazione e contengono molteplici elementi rotondeggianti mono e polinucleati e abbondanti figure cariocinetiche. Anche questi piccoli nodi recenti del lobo sinistro si continuano col parenchima epatico con una zona di infiltrazione, meno profonda è vero (tanto che macroscopicamente non si poteva sospettare) ma coi caratteri precisi di quella più sopra descritta.

Esaminando ora il parenchima epatico e nella zona immediatamente contigua ai nodi neoplastici e a distanza vi troviamo notevolmente aumentato il connettivo interacinoso. Così i normali setti interacinosi sono notevolmente ispessiti (e nei preparati colorati col metodo elettivo del Van Gieson per il tessuto connettivo la cosa è specialmente dimostrabile), alcuni sono costituiti da tessuto connettivo adulto, con scarsi nuclei, altri invece presentano una infiltrazione cellulare abbondante di piccoli elementi mononucleati ben colorabili. Abbiamo il reperto istologico di una vera cirrosi epatica in via di organizzazione, perchè il connettivo giovane prevale sull'antico e perchè gli elementi epatici degli acini sono ancora ben conservati e presentano una appena incipiente degenerazione grassa. In questi tramezzi connettivi vediamo numerosi canalicoli biliari in parte pervii in parte occlusi, ed elementi vascolari colle pareti ispessite. Questi sepimenti connettivali del

fegato in alcuni punti si continuano direttamente col tessuto neoplastico sarcomatoso, come abbiamo veduto avvenire dei nodi neoplastici del lobo sinistro, col connettivo capsulare. Si ha un lento passaggio per trasformazione degli elementi connettivali ed una attiva proliferazione del tessuto connettivo che si trasforma in tessuto fibro sarcomatoso.

Dove il neoplasma è più evoluto non si trova più traccia di questi sepimenti connettivi che sono completamente scomparsi. Questa trasformazione neoplastica porta con se la distruzione dei numerosi canalicoli biliari e vasi compresi nel connettivo interacinoso, che vengono compressi e distrutti.

Come macroscopicamente appariva, anche istologicamente i grossi vasi all'ilo del fegato sono perfettamente pervii ed immuni da invasione neoplastica.

Abbiamo successivamente esaminati anche i nodi metastatici dei varî organi.

Dal fegato il tumore si era diffuso per continuità al diaframma ed alla base del polmone. Il diaframma per un gran tratto n'è completamente invaso, tantochè nel tessuto compatto fibrosarcomatoso non si trovano traccie del tessuto muscolare. Solo ai margini, l'elemento neoplastico divarica e si infiltra tra i fascetti di fibrille muscolari, che ne restano compressi, atrofizzati. All'intorno del tratto aderente del diaframma, si ha una eruzione neoplastica sottosierosa di nodi multipli sporgenti. La struttura di questi è spiccatamente fibro sarcomatosa e vi sono assai rari gli elementi rotondeggianti, mancanti i polinucleati. Un piccolo tratto della base del polmone destro dove questo aderisce al diaframma e al fegato, mostra il parenchima polmonare completamente sostituito da tessuto sarcomatoso. Qui prevalgono le cellule fusate e sono scarse le cellule giganti e mancano affatto le figure cariocinetiche. Ai confini della zona sarcomatosa si trovano dei vasi dilatati e pieni di zaffi di cellule sarcomatose.

Esaminati anche i piccoli, scarsi nodi neoplastici disseminati nei due polmoni vi si trova la struttura tipica fibro sarcomatosa, con scarsi elementi rotondeggianti o polinucleati.

Colorando le sezioni di questi nodi col metodo specifico di Weigert per la colorazione della sostanza elastica, si trova come la struttura alveolare del polmone resti nettamente disegnata nella massa neoplastica, per la persistenza di parte delle fibrille elastiche della parete alveolare.

Nessun'altro elemento della parete alveolare permane, tantochè nella semplice colorazione nucleare questa persistenza di elementi trabecolari non si avverte.

I nodi metastatici sottosierosi del mesenterio e dell'intestino si dimostrano assolutamente indipendenti dalle ghiandole linfatiche, le quali invece non solo non sono infiltrate ma si presentano impicciolite ed atrofiche. Questi nodi poi come quelli della parete della cistifellea e assolutamente indipendenti dalla mucosa, sono costituiti da elementi sarcomatosi fusati, disposti a fasci intrecciati, con scarsissimi elementi rotondeggianti, mononucleati. Solo nei più grossi dei nodi metastatici osservati e specialmente in quelli del diaframma erano reperibili focolai centrali di mortificazione.

Descritta così sommariamente la struttura istologica del neoplasma e dei suoi nodi, vediamo se ne possiamo trarre la conclusione che in questo caso si tratti di un sarcoma primitivo del fegato e se dallo studio di questo caso possiamo trarne criterî sufficienti per determinarne l'istogenesi.

La prima obbiezione da escludere si è quella che il tumore si fosse iniziato in un altro organo e la enorme diffusione al fegato non ne fosse che una manifestazione secondaria.

Escluso, per un attento esame anatomico macroscopico, che potesse essersi originato, come tante volte avviene, dalla parte alta del collo o dal capo (cavità orbitaria, occhio, tiroide, ecc.) ed escluso che potesse derivare da una precedente manifestazione sarcomatosa alle ossa, poteva restare il dubbio che il sarcoma fosse originariamente cominciato al polmone e solo secondariamente si fosse diffuso al fegato.

Ma se noi consideriamo la forma a piccoli nodi disseminati nel parenchima, evidentemente in rapporto ad una diffusione embolica per via venosa, la possiamo ritenere come metasta-

tica e non come primitiva. A questo aggiungiamo che il sarcoma primitivo del polmone è estremamente raro (1), si sviluppa preferibilmente sopra aree sclerotiche ed è sempre unilaterale, formante un blocco biancastro, piuttosto duro e poco succoso e talora, come nel caso di Rutimeyer (2), esclusivamente centrale e che facilmente si mescola al mixoma (Colomiatti) (3), o assume forma alveolare (4), condizioni tutte che nel caso nostro non si riscontrano.

Di più il sarcoma primitivo del polmone presenta una molto rapida e precoce invasione dei gangli vicini (Braunreuter (5), che nel nostro caso erano assolutamente illesi.

Ma il polmone nel nostro caso oltre al presentare la diffusione multipla disseminata per via venosa, presentava anche una diffusione per continuità ad un piccolo tratto della base. Questa diffusione è anche conosciuta ed ammessa, e per quanto sia rarissima dal fegato, è descritta più frequentemente per diffusione da osteosarcomi delle coste (Kroenlein) (6).

Similmente la nessuna compartecipazione delle ghiandole mesenteriche, la moltiplicità dei nodi sottosierosi addominali ci fanno ritenere che anche questi non siano che l'espressione di una diffusione metastatica.

D'altra parte il nodo grosso calcificato al centro del fegato, che certo è indice di una lunga durata dell'affezione stessa, ci fa ritenere che questa si sia appunto in questa regione iniziata. Ma da quali elementi si è originato il sarcoma?

---

(1) Cornil Ranvier, « Man. d'hist. pathol. », 2ª ediz., vol. II.
Letulle, « Néoplasmes du prumon ». Dict. de Jaccoud, XXIX, p. 478.
Riedinger, *Deut. Chir.* di Billeroth e Lenecke, 1888, fasc. 42.
Fuchs, *Beiträge f. kem. der prims. Geschw. in der Lungen.* München, 1886.

(2) Rutimeyer, *Corresp. Bl. f. Schw. Aerzte*, 1888.

(3) Colomiatti, *Riv. clin. di Bologna*, Gennaio 1879.

(4) Krönig, *Berl. klin. Woch.*, Dicembre, 1887.
Spilmann-Hanshalter, « Diagnose des tum. de poumon » (*Gazette hebdom.*, 1891, 48-49).
Scheoh, *Arch. f. Klin. Med.*, B. XLVIII, H. 1-2, 1891.

(5) Braunreuter, Tesi di Monaco, 1887.

(6) Kroenlein, *Corresp. Blatt f. Schweizer Aerzte*, 15 ott. 1887.

Nella letteratura dell'argomento abbiamo veduto come la più gran parte dei sarcomi primitivi del fegato fossero descritti come angiosarcomi a struttura alveolare e derivanti dalla parete dei vasi. Nel nostro caso questa origine istogenica non si può sostenere. Abbiamo veduto come in nessun punto si potesse dimostrare questa derivazione e come i vasi fossero bensì compressi e alterati dalla massa neoplastica circostante, ma come mai dalla parete periteliale si vedesse una neoformazione cellulare. Similmente nel nostro caso in nessun punto la massa sarcomatosa ha assunta disposizione alveolare, nè si osservano ammassi cellulari a forma concentrica e raggiata come avviene sempre quando il sarcoma ha origine perivascolare.

Abbiamo veduto è vero dei vasi sanguigni zaffati da cellule sarcomatose, ma non ci fu mai possibile di dimostrare un rapporto tra questi elementi e gli elementi endoteliali del vaso stesso. Il tumore si diffondeva passivamente per mezzo dei vasi (e questo ci spiega anche la sua grande diffusione metastatica) e questa iniezione vascolare passivamente cooperava al suo accrescimento. I vasi però, in alcuni punti, specialmente nei nodi più giovani in attiva proliferazione, mostravano una certa compartecipazione alla neoformazione, però puramente secondaria. Abbiamo infatti veduto come da questi elementi per proliferazione diretta si originassero delle cellule polinucleate giganti, più piccole delle cellule giganti derivanti dagli elementi sarcomatosi; e come questo fatto ci venga a confermare quanto fu da altri autori osservato, che cioè alla produzione delle cellule giganti concorrano in gran parte gli elementi endoteliali dei vasi, comunque alterati od irritati (1).

Esclusa così l'origine vascolare di questo sarcoma, dobbiamo ricercarne l'origine in un altro punto.

Come l'istologia ci insegna, il parenchima epatico è sostenuto da una trabecolatura connettiva che si continua colla

---

(1) Brosch, *Virchow's Arch.*, Bd. 144, H. 2.

capsula e forma non solo dei tramezzi interlobari ed interlobulari, ma anche intercellulari.

Nel nostro caso il tumore origina da questo connettivo. La troppo avanzata distruzione del nodo centrale ci impedisce di darne in questo punto la dimostrazione; ma questa è manifesta quando noi esaminiamo i territori vicini dove il tessuto epatico è ben conservato. Così si vedono tramezzi connettivi iperplastici i cui elementi proliferanti gradatamente si trasformano in tessuto sarcomatoso; così si comprendono i nodi corticali del lobo sinistro del fegato aventi rapporti diretti di formazione colla capsula ispessita immediatamente soprastante e si comprende anche l'invasione intercellulare del tumore ai suoi confini, nel tessuto epatico.

Il tumore verosimilmente si è originato all'ilo dove i sepimenti connettivi sono più cospicui e più numerosi e dall'ilo si è diffuso a tutto l'organo. Nei nodi corticali la formazione si dimostrava recente per la attiva proliferazione cellulare, per l'abbondanza degli elementi rotondeggianti, di cellule giganti e di figure cariocinetiche.

Ammettendo questa origine ci spieghiamo la struttura fibrosarcomatosa predominante nel neoplasma epatico e nei suoi nodi metastatici.

Nel nostro caso, come generalmente avviene, senza che però la ragione intima sia manifesta e riconosciuta, al tumore era concomitante una cirrosi. Questo conferma la regola generale e nel caso speciale si può interpretare come una manifestazione dello stimolo neoplastico del connettivo. O non possiamo ammettere che la cirrosi in questi casi non rappresenti che un fenomeno irritativo in rapporto ai tossici del neoplasma o all'alterato metabolismo epatico?

Lo studio del presente caso ci conferma dunque in ordine generale che:

Il sarcoma si può sviluppare primitivamente nel fegato anche nell'età adulta;

E ci dimostra nel caso speciale:

Che la sua struttura non è sempre alveolare e la sua origine perivascolare, come lo studio di altri casi potrebbe far ritenere, ma che si può sviluppare direttamente dalla trabecolatura connettiva propria del fegato, assumendo nei nodi giovani, in attiva proliferazione, la forma di sarcoma rotondo cellulare o a cellule polimorfe, per trasformarsi nella successiva evoluzione e nei nodi metastatici nella forma tipica fibrosarcomatosa.

Cagliari, Maggio '900.

Spiegazione della Tavola.

Fig. 1ª — Nodo recente di sarcoma del fegato in attiva proliferazione.

Fig. 2ª — Zona di confine tra il tessuto sarcomatoso ed il tessuto epatico.

Fig. 3ª — Piccolo nodo metastatico di sarcoma al polmone.

Fig. 4ª — Aspetto macroscopico del sarcoma epatico e della sua diffusione metastatica al diaframma.



Fig. 1

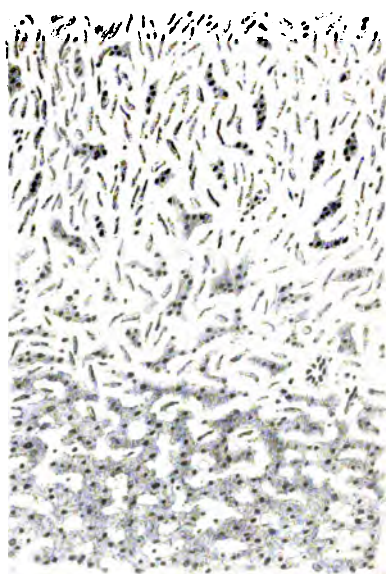


Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

Stab. Eliotipico Ing. Molfese - Torino.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 15.

DI UN METODO SEMPLICE

PER

COLORARE LE CIGLIA DEI BATTERI

PER IL

Dott. **Gino DE' ROSSI**

Assistente presso l'Istituto d'Igiene dell'Università di Pisa.

(Tav. VII)

I.

La tecnica attuale della colorazione delle ciglia.

La presenza di ciglia nei batteri mobili, di cui il Koch dette per primo una sicura dimostrazione (1), fu poi ampiamente confermata dal Löffler, che indicò uno speciale processo di colorazione (2). Lo studio di questi organi del movimento non deve considerarsi come una semplice curiosità naturalistica, dappoichè essi, costituendo una parte integrante della morfologia dei batteri, quando la conoscenza ne sarà più esatta e precisa, potranno, più che attualmente non si creda, fornire utili applicazioni sia per la classificazione (di cui un primo saggio fu dato dal Messea) (3) sia per la rapida diagnosi differenziale tra specie di aspetto presso a poco simile

(1) Koch, *Beitr. zur Biologie der Pflanzen*, Bd. II, H. 3, 1877.

(2) Löffler, *Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde*, Bd. VI, 1889, n. 8-9. — Id., Bd. VIII, 1890, n. 20. Vanno citati anche gli accenni e i tentativi anteriori di Ehrenberg (1838), Cohn (1872), Dallinger e Drysdale (1875), Warming (1875), Kunstler (1884).

(3) A. Messea, *Rivista d'igiene e sanità pubblica*, anno I, 1890, n. 14, p. 513.

e finora determinabili solo per mezzo di speciali artifizi di tecnica batteriologica.

La troppo scarsa importanza finora attribuita allo studio delle ciglia dipende certo dalla difficoltà di metterle bene in evidenza. Per il loro indice di refrazione molto simile a quello dei mezzi in cui si osservano i batteri, e sopratutto per la loro grande mobilità, non possono, salvo qualche rara e dubbia eccezione, essere osservate nei preparati a fresco in goccia pendente. Ma nemmeno coi comuni metodi di colorazione dei microrganismi è dato di svelare la presenza delle ciglia, dappoichè esse non dimostrano alcuna affinità per le sostanze coloranti anche le più energiche, se non si ricorre a speciali artifizi. Per metterle in evidenza il Löffler ha approfittato di un processo suggeritogli dalla pratica dell'arte tintoria, ricorrendo all'uso dei cosidetti mordenti, di quelle sostanze cioè, da lungo tempo in uso nella tecnica della colorazione del cotone, che dispongono le fibre tessili ad assumere facilmente le sostanze coloranti. Questo mordente, nel metodo di Löffler, e in quasi tutti gli altri metodi successivamente indicati, è a base di tannino.

Non è mia intenzione esporre minutamente tutta la lunga serie di processi proposti in questi ultimi anni, tanto più che essi si possono facilmente riunire in due gruppi che fanno capo ai metodi del Löffler e del van Ermengem, dai quali spesso non differiscono che per lievi modificazioni di dubbio valore. Mi limiterò a descrivere per esteso i due processi summenzionati, toccando brevemente delle più importanti modificazioni proposte. Ciò allo scopo di far rilevare l'opportunità e l'importanza del metodo da me studiato.

Il Löffler, nella sua seconda memoria, così descrive il suo metodo. Si diluisce una piccola quantità di cultura pura in una goccia d'acqua distillata o meglio di acqua di conduttura (sembrando che l'acqua distillata eserciti un' influenza nociva su alcuni microrganismi); di questa sospensione batterica

vengono portate piccolissime quantità in altre goccioline di acqua previamente disposte su altrettanti copri-oggetti per[redacted]ttamente puliti. Per ottenere la perfetta pulitura dei ve[redacted]il Löffler li riscalda in acido solforico concentrato, li s[redacted]a con acqua, li passa in un miscuglio di alcool e ammo[redacted]a a parti uguali e li asciuga con un panno ben pulito.[redacted] più piccola traccia di impurità che rimanga aderente a[redacted]vetrino dà luogo a precipitazioni di colore molto nocive, in[redacted]tre impedisce che le goccioline di acqua possano distend[redacted]si bene sul vetrino stesso. Quando i preparati sono asciut[redacted]i fissano per mezzo del passaggio attraverso la fiamma, tenen[redacted]li direttamente coll'indice e il pollice, e non colle pinzett[redacted] per evitare il pericolo di un eccessivo riscaldamento che [redacted]uirebbe la colorabilità dei bacilli e specialmente delle [redacted]Si versa sul copri-oggetti, in modo da ricoprirlo tutto [redacted] soluzione mordente, e si espone sulla fiamma, te[redacted]endo[redacted]continuo movimento per $^1/_2$-1 minuto, fino ad aversi un lieve[redacted]imento di vapore. Si lava abbondantemente con acqua disti[redacted]poi con alcool assoluto, fino a scomparsa dei grossolani pre[redacted]ti che possano essersi verificati al di fuori dell'area contene[redacted] il materiale batterico, quindi vi si ver[redacted]no sopra alcune goccie di soluzione colorante riscaldando [redacted]l modo già detto fino all'evaporazione, si lava, si asciuga [redacted]i monta nel modo consueto.

[redacted]mordente di Löffler ha la seguente composizione: 10 cmc. d[redacted]a soluzione acquosa di tannino (20 gr. su 80 di acqua di[redacted]ta), 5 cmc. di soluzione satura a freddo di solfato di [redacted] 1 cmc. di soluzione acquosa o alcoolica di fucsina o [redacted]metile. Di più, per la maggior parte delle specie batte[redacted] necessaria l'aggiunta al mordente di una certa quanti[redacted]oluzione di soda all'1 $^0/_0$ o di una soluzione equivalente di acido solforico. Per ogni specie batterica si avrebbe un *optimum* di aggiunta di alcali o di acido, determinato da Löffler per un gran numero di batteri, e da determinarsi sperimentalmente per ogni nuovo microrganismo, *optimum* che oscilla per le singole specie entro limiti molto ristretti. Si ha

così una vera scala di mordenti con diverse aggiunte di alcali o di acido per mordenzare le ciglia dei vari batteri in modo da renderle adatte a subire l'azione del liquido colorante. Questo consiste in una soluzione satura di fucsina in acqua di anilina perfettamente neutralizzata per mezzo dell'aggiunta di una soluzione di soda all'1 $^0/_{00}$, finchè la soluzione chiara e trasparente in uno strato di parecchi centimetri non accenna a intorbidarsi.

Modificazioni più o meno importanti del metodo di Löffler allo scopo (non sempre raggiunto) di semplificarne l'esecuzione o di ottenerne migliori risultati, sono state proposte da Trenkmann (1) (processo, secondo Migula (2), anche più complicato di quello di Löffler e che dà risultati meno buoni), da Sclavo (3) (metodo adatto per un numero limitato di batteri; incostante, a quanto dichiara l'A., per il bacillo del tifo, inefficace per il *bacterium coli*, il colera, ecc.) da Bunge (4), da Fischer (5) (modificazioni della composizione o del modo di applicazione del mordente). Strauss (6), Klein (7), Sakharoff (8), Hessert (9), Doddeswell (10), parlano di colorazioni ottenute senza l'azione del mordente, ma si tratta di processi affatto malsicuri e che servirebbero solo per pochissime specie batteriche.

Di tutte le derivazioni dal metodo di Löffler, la sola che abbia una reale importanza e che sia stata messa in pratica con qualche successo è quella indicata da Nicolle e Morax (11).

(1) Trenkmann, I Mittheilung, *Centralbl. f. Bakt u. Paras.*, Bd. VI, 1889, n. 16-17; II Mittheilung, Id., Bd. VIII, 1890.

(2) Migula, « System der Bakterien », Bd. I, 1897, p. 103.

(3) Sclavo, *Rivista d'igiene e sanità pubblica*, 1892, n. 22, p. 653

(4) Bunge R., *Fortschritte der Medizin*, Bd. XII, 1894, n. 12, 17, 24.

(5) Fischer A., *Ringsheim's Jahrbücher f. wissenschaftliche Botanik*, Bd. XXVII, 1895, p. 1.

(6) Strauss, *Bulletin médical*, 1892, n 51, p. 1003.

(7) Klein, *Centralbl. f. Bakt. u. Paras*, Bd. XIV, 1893, p. 618.

(8) Sakharoff, *Annales de l'Institut Pasteur*, v. VII, 1893, p. 550.

(9) Hessert W., *Centralbl. f. Bakter.*, Bd. XVI, 1894, p. 346.

(10) Doddeswell. *Annales de Micrographie*, vol. VI, 1889, p. 209.

(11) Nicolle et Morax, *Annales de l'Institut Pasteur*, vol. VII, 1893, p. 554.

Questi AA. usano per tutte le specie batteriche un solo mordente, che è poi lo stesso indicato da Löffler, senza nessuna aggiunta di acido o di alcali. Essi non fissano il preparato, ripetono la mordenzatura per 3 o 4 volte, esponendo il copri-oggetti per 10-15 secondi su una piccola fiammella fino a che non si manifesti un leggero vapore e lavandolo accuratamente ogni volta con acqua distillata (non con alcool); colorano con il comune liquido di Ziehl o con una semplice soluzione di fucsina in acqua di anilina, riscaldando una o due volte nello spazio di 15-20 secondi.

Il punto debole di tutti questi metodi sta nel mordenzamento, che se insufficiente non rende le ciglia suscettibili di assumere la sostanza colorante, se troppo prolungato dà luogo alla formazione di estesi precipitati che aderiscono fortemente al copri-oggetti ricoprendo e mascherando i batteri e specialmente le ciglia. Tant'è vero che mentre nei preparati fatti *da un abile e pratico operatore* esiste quasi sempre qualche punto ben riuscito, d'altra parte, nota il Günther (1), « *solo* « *eccezionalmente si riesce a ottenere un preparato le di* « *cui singole parti soddisfino l'occhio dell'osservatore* ». Lo stesso Günther non esita ad affermare che il metodo di Löffler più o meno modificato « *è assai difficile nella pra-* « *tica e non dà risultati molto sicuri* ».

E van Ermengem (2) credeva fosse ancora un *desideratum* della tecnica batteriologica un processo di colorazione sollecita e di facile esecuzione. Ma per vero, il metodo che egli propone, affatto differente da tutti quelli di cui ci siamo finora occupati e fondato su principii di tecnica fotografica, si presenta esso pure assai lungo e complicato. I vetrini portanti il materiale batterico vengono preparati presso a poco nel modo consueto e fissati. Vi si versa sopra una goccia di un mordente (una parte di acido osmico al 2 %, due parti di

(1) Günther, « Einführung in das Studium der Bakteriologie », 1893.
(2) Van Ermengem, *Travaux du Laboratoire d'Hygiène et de Bactériologie de l'Université de Gand*, P. I, 1893.

tannino al 10-25 %) che deve agire per mezz'ora a freddo o per cinque minuti alla temperatura di 50°-60°. Si lavano ripetutamente i preparati con acqua e alcool, si passano per alcuni secondi in un bagno sensibilizzatore (soluzione di nitrato d'argento al 0,5-0,25 %) e poi, senza lavarli, nel bagno riduttore e rinforzatore (acido gallico 5, tannino 3, acetato di potassa fuso 10, acqua distillata 350); dopo alcuni secondi si riportano nella soluzione di nitrato d'argento ove si tengono, agitandoli continuamente, finchè la soluzione non cominci ad annerire. Si lava con acqua, si asciuga e si monta in balsamo. Le ciglia risultano colorite in nero per un precipitato d'argento metallico.

Questo processo, per consenso generale, dà risultati discreti, non però superiori a quelli che si hanno col metodo di Löffler. Si ha una colorazione più intensa, ma nello stesso tempo i precipitati inevitabili divengono anch'essi più scuri e molesti (Migula). Ciò viene anche confermato da A. Hinterberger (1), che propone alcune modificazioni al metodo di van Ermengem.

Vale la pena — trattandosi di una pubblicazione recentissima — di esporre il processo di colorazione delle ciglia proposto dall'Hinterberger nella memoria corredata da microfotografie di preparazioni non tutte ben riuscite, il cui semplice confronto coi fotogrammi accompagnanti le memorie del Löffler non depone certo in favore di una reale superiorità del complicatissimo procedimento!

L'Hinterberger insiste lungamente sulla necessità di una perfetta pulitura dei vetrini copri-oggetti, che può ottenersi mediante lo scrupoloso adempimento di una serie di operazioni. « La più piccola quantità di sostanza organica sul copri-og- « getti — egli dice — dà luogo alla formazione di precipitati « che ricoprono completamente le parti più delicate e quindi « anche le ciglia. Inoltre sembra che le ciglia siano di una

(1) A. Hinterberger, *Centralbl. f. Bakter. u. Paras.*, Bd. XXVII, 1900, n. 16-17, p. 597.

« sostanza che non assorbe facilmente l'argento (e le sostanze « coloranti) cosicchè *l'argento nella reazione finale viene fis- « sato prima da queste impurità che non dalle ciglia* ».

Ciò premesso, ecco la lunga serie di manipolazioni che compongono il metodo van Ermengem, modificato dall'Hinterberger:

1. Bollitura dei copri-oggetti in una soluzione al 6 $^0/_0$ in acqua di bicromato di potassa e acido solforico a parti uguali, rinnovata varie volte.

2. Lavatura prolungata con acqua, con alcool al 95 $^0/_0$, con miscuglio di etere e di alcool e finalmente con alcool assoluto ove i vetrini vengono conservati fino al momento di adoprarli. Allora i vetrini, afferrati con un' apposita pinzetta di vetro (che sarà usata in tutto il seguito del processo), prima che l'alcool sia evaporato, vengono passati ripetutamente attraverso alla fiamma di un becco Bunsen.

3. Preparazione del materiale batterico sul copri-oggetti presso a poco nel modo consueto, colla differenza che la fissazione si eseguisce tenendo il preparato per alcuni minuti in una stufa a 100°-110°.

4. Applicazione del mordente, secondo la formula di van Ermengem per 30 minuti a freddo, lavatura con acqua, con alcool, poi di nuovo con acqua.

5. Passaggio in alcool a 95 $^0/_0$, lavatura accurata con acqua, applicazione di alcune goccie di soluzione di nitrato d'argento in alcool assoluto all'1 $^0/_0$.

6. Eliminazione di ogni traccia di nitrato d'argento libero mediante ripetute successive immersioni in soluzione acquosa di cloruro di sodio al 7 $^0/_{00}$ e in soluzione di ammoniaca al 30 $^0/_0$.

L'eccesso di ammoniaca ed il cloruro di argento disciolto dall'ammoniaca stessa vengono eliminati mediante bagni ripetuti in alcool al 95 $^0/_0$ seguiti da abbondante lavatura con acqua.

7. Applicazione sul porta-oggetti di alcune goccie di un bagno sviluppatore (acqua distillata 20, soluzione satura a

freddo di acido gallico 20, soluzione al 50 % di acetato di soda 2), preferibilmente preparato da alcuni giorni, che viene subito eliminato ponendo i margini del vetrino a contatto con carta bibula.

8. Passaggio del coprioggetti in una soluzione al 0,25 % di nitrato di argento in acqua e alcool (a 95 %) in parti uguali, togliendolo e rimettendolo rapidamente nel bagno fintantochè la soluzione non accenna ad annerire e sul vetrino non riesce visibile il materiale batterico con macchie scure più o meno spiccate.

9. Passaggio per 10-15 secondi (non assolutamente necessario, ma utile a ottenere una maggiore purezza e nitidezza del preparato) in un bagno d'oro, e cioè nel bagno di fissaggio e viraggio combinati, secondo la formula Liesegang, usato comunemente in fotografia, vecchio e diluito in tre volumi di acqua distillata.

10. Lavatura accurata con acqua e prosciugamento all'aria sotto una campana di vetro.

Pure trascurando le operazioni relative alla pulitura del copri-oggetto e alla preparazione del materiale batterico che sono, in tesi generale, consigliabili qualunque sia il metodo di colorazione che si voglia seguire, non è chi non veda quanto lunghe, minuziose, complicate sieno le manipolazioni descritte nei paragrafi 4-10! Nè basta ciò, ma, secondo avverte l'A., « la luce ha una grande importanza in questo processo, per « così dire, fotografico. Si hanno i migliori risultati nei giorni « in cui il cielo è coperto da nuvole bianche, luminose (!) e « si ha per conseguenza una luce riflessa, diffusa, e uniforme. « Nei giorni scuri, nebbiosi, la reazione finale avviene troppo « rapidamente, cosicchè si ha una colorazione troppo debole « ed eventualmente anche precipitati granulosi, ai quali difetti « può solo rimediarsi per mezzo della ripetizione del processo ».

In conclusione, e per consenso generale dei più noti scrittori di tecnica batteriologica (Günther, Migula, Macé) i me-

todi consigliabili per la colorazione delle ciglia sono quello di Löffler (originale o modificato da Nicolle et Morax) e quello di van Ermengem. Trattasi però sempre di metodi assai complessi e che non sono capaci di dare preparati veramente buoni se non in mano di chi abbia una discreta pratica ed abilità tecnica. Richiedono la preparazione, assai lunga e delicata, di liquidi speciali che poi facilmente si alterano. Hanno finalmente il difetto di fornire, anche in mano di abili operatori, risultati incostanti, onde avviene che spesso, pure attenendosi scrupolosamente alle prescrizioni, per lievissime influenze impossibili a determinarsi, la colorazione può completamente fallire. Cosicchè non è veramente ripetere un luogo comune l'affermare che manca finora nella tecnica batteriologica un metodo facile, rapido, alla portata di tutti e di risultato sicuro per la colorazione delle ciglia dei batteri.

II.

Un metodo semplice di colorazione delle ciglia.

Dopo lunghe e pazienti indagini proseguite da quasi due anni, indirizzate da prima — senza buon risultato — alla ricerca di possibili mezzi di impregnazione da parte di sali metallici, analogamente al principio su cui si basa il metodo di van Ermengem ed alcuni ben noti metodi di tecnica istologica, e limitate poi allo studio di una logica semplificazione del processo di mordenzamento, io sono adesso in grado di poter indicare con piena fiducia un metodo di colorazione delle ciglia che mi sembra avere notevoli vantaggi in confronto di quelli surriferiti, trattandosi, secondo la mia esperienza non solo, ma anche per la testimonianza di vari miei colleghi dell'Università di Pisa, di un processo di sicura riuscita e che fornisce ottimi preparati. Ma pure attendendo la conferma di questa superiorità dalla larga esperienza di operatori estranei, basata sulla accurata esecuzione delle norme che sto per riferire, è fuori di dubbio che a favore del mio metodo resta sempre il

notevole vantaggio di una straordinaria facilità e semplicità di esecuzione, che lo mette — senza soverchia perdita di tempo — alla portata di chiunque non sia affatto digiuno dei più elementari principii di tecnica batteriologica.

Grande è la semplicità dei mezzi necessari per la colorazione. Si ha il *liquido mordente*, composto sciogliendo a caldo 25 gr. di acido tannico in 100 gr. di soluzione acquosa al-l'1 $^0/_{00}$ di potassa caustica, affatto inalterabile e che si conserva indefinitamente. Il *liquido colorante* è la comune *fucsina carbolica preparata secondo la formula originale di* Ziehl:

Acqua distillata	gr.	100
Acido fenico cristallizzato	»	5
Alcool	»	10
Fucsina	»	0,25 (1).

Indubbiamente per il mio, come per tutti gli altri metodi, una grande importanza per la buona riuscita ha la preparazione del materiale da colorirsi, non tanto forse per certe particolarità sulle quali insistono alcuni AA. (età della cultura, qualità dell'acqua di diluizione, ecc.), quanto per varie altre, alcune evidentissime come la pulitezza del vetrino copri-oggetti, *il grado di diluizione del materiale batterico*, alcune ancora incerte, ma sicuramente importanti e cioè, la composizione del substrato di coltura, la temperatura di sviluppo ed altre condizioni a proposito delle quali io non sono ancora completamente orizzontato, ma che saranno oggetto di ulteriori ricerche.

Ciò premesso, io credo opportuno di esporre alquanto minutamente la tecnica da me seguita, con buon risultato, in tutti quanti i suoi momenti, raccomandando vivamente di seguire alla lettera ognuna delle apparentemente più insignificanti prescrizioni. Io ho avuto modo di convincermi che se può talvolta ottenersi una buona colorazione anche deviando note-

(1) Esistono com'è noto varie altre formule di composizione della fucsina carbolica, le quali se servono indifferentemente per la colorazione specifica del bacillo tubercolare, non corrispondono ugualmente bene nella loro applicazione alla colorazione delle ciglia.

volmente dalle regole prescritte, d'altra parte, solo seguendole accuratamente nelle loro più minute particolarità si ha la certezza di ottenere risultati soddisfacenti.

Preparazione dei vetrini copri-oggetti. — Si trattano a caldo con acido solforico, si lavano bene con acqua e si conservano in alcool assoluto; al momento di adoprarli, si asciugano con una pezzuola fine e ben pulita. Quindi, afferratili con una pinzetta, si passano rapidamente per 30-40 volte attraverso la fiamma incolore di una lampada a gas, e si depongono su di un cartoncino o su una lastra di vetro, esponendo in alto la superficie che stava in basso durante il passaggio attraverso la fiamma.

Con tale procedimento si ottiene la perfetta nettezza dei copri-oggetti; ciò che sarà comprovato dal facile distendersi su di essi del liquido, che in caso diverso si rapprende, durante il prosciugamento, in piccole goccioline, dando luogo all'imperfetta ed inuguale distribuzione del materiale batterico sul copri-oggetti.

Preparazione del materiale batterico. — Si usa preferibilmente una coltura fresca (da alcune ore a 3-4 giorni) su agar semplice (preparato con cura e con un contenuto non soverchio di cloruro di sodio) tenuta nella stufa alla temperatura di 37° C. Se ne asporta mediante una sottile ansa di platino una piccolissima particella e la si diluisce mediante lievi e delicati movimenti di va e vieni in un po'di acqua distillata versata in un vetrino da orologio perfettamente pulito, in modo da ottenere una fine emulsione lattiginosa.

Di questa emulsione si passa un' ansa in un secondo vetrino da orologio contenente da mezzo a un cmc. di acqua distillata, rimescolando dolcemente. Un'ansa di questa seconda diluizione si depone — senza distenderla ulteriormente — su ciascuno dei copri-oggetti, i quali vengono portati in un essiccatore ad acido solforico ove il prosciugamento avviene assai rapidamente. Ad essiccamento completo sul vetrino non deve rimanere che un

lievissimo ed appena percettibile anello bianchiccio che indica i limiti della goccia, mentre la parte del copri-oggetti corrispondente al centro della goccia stessa deve rimanere affatto trasparente. In caso diverso, se cioè tutta la goccia ha lasciato traccia di sè sul copri-oggetti, è quasi inutile procedere alla colorazione, poichè la sovrabbondanza del materiale batterico o la presenza di impurità impedirebbero il buon esito di essa.

Colorazione. — Le bottiglie contenenti i due liquidi mordente e colorante, di cui ho già dato la formula, portano due pipette perfettamente uguali. Sul vetrino copri-oggetti, *non fissato,* si versano una goccia della soluzione tannica e 4-5 goccie della soluzione colorante avendosi la formazione di un precipitato. Si lascia il vetrino in riposo per 15-20-25 minuti; l'*optimum* di questo intervallo può forse variare leggermente per varie cause. Comunque si possono preparare contemporaneamente 2 o 3 vetrini da tenersi in contatto con la sostanza colorante per un periodo vario di tempo. La colorazione può eseguirsi molto più rapidamente, *ma non colla medesima sicurezza di buona riuscita*, a caldo, se si porta il vetrino a 15-20 cm. al di sopra di una piccola fiammella a gas, imprimendogli un continuo movimento di va e vieni, in modo che sia sottoposto, per la durata di 25-30 secondi ad un calore non troppo forte, facilmente sopportabile dalla mano e che non dia luogo a sviluppo di vapori.

Dopo di che il vetrino viene lavato con acqua distillata, asciugato con cura mediante carta bibula e montato in balsamo.

Alcuni preparati sono veramente belli in ogni loro punto, ma spesso solo alcune parti possono dirsi ben riuscite, sia perchè qua e là i germi mancano realmente di ciglia, distaccatesi durante le varie manipolazioni, sia per la eventuale formazione di precipitati o per la ineguale forza della colorazione. Anzi è a dirsi che bene spesso in prossimità dei più forti precipitati si trovano i migliori esemplari di batteri ciliati. È necessario di osservare pazientemente ed in ogni sua parte il preparato, poichè, salvo casi eccezionali, un accurato esame fa scorgere anche nei preparati meno riusciti alcuni germi

provvisti di ciglia bene evidenti. *Lungo i margini della goccia la colorazione è quasi sempre buona;* però è da notarsi che, specialmente quando si tratta di batteri con molte ciglia, lungo i margini per lo più non si osserva che un intricato ammasso di filamenti ciliari e di corpi bacillari, mentre nella parte intermedia tra l'orlo e il centro si osservano le migliori forme isolate e provviste delle ciglia intatte e ben colorate.

Ho sperimentato il mio metodo, con buon esito, per il *bacillo del tifo*, per il *bacterium coli*, per il *bacillo del cholera*, per il *bacillo sottile*, per il *bacillo della patata*, per il *bacillo piocianeo* e per varie forme di *spirilli* e di *bacilli* non determinate, isolate dall'acqua, dal latte, e da infusi di fieno; cosicchè ho ragione di credere che esso sia di applicazione generale per la colorazione di tutte le specie batteriche provviste di ciglia.

Come esempio dei risultati ottenuti unisco alcuni fotogrammi, riprodotti fedelmente dalle mie negative *lasciate libere da ogni sorta di ritocco.* È noto che la lastra fotografica è assai più sensibile dell'occhio umano. Una prova evidentissima ne avrebbe chi confrontasse i preparati originali, limpidi e con poche traccie di impurità, con le riproduzioni fotografiche, le quali si vedono cosparse di piccoli precipitati. Ciò nondimeno, lo ripeto, ho voluto evitare ogni ritocco perchè si potesse constatare che anche le impurità esistenti non disturbano menomamente la osservazione delle forme batteriche, le cui ciglia si osservano così evidenti come non sono riprodotte in nessuna delle pubblicazioni che io ho potuto avere fra mano. Si confrontino infatti le mie positive con le buone fotografie annesse alle due memorie del Löffler, con quelle che illustrano i classici trattati del Günther e del Migula e si vedrà che se in queste il fondo, in grazia probabilmente di un sapiente ritocco, appare più unito ed esente da impurità, le ciglia sono invece assai meno chiare e distinte, dappoichè mentre sono spesso appena visibili e molto scarse nei bacilli

isolati, appaiono bene evidenti solo come un confuso inviluppo all'intorno di gruppi di batteri. E si noti che le figure delle memorie e dei trattati ricordati sono in eliotipia, un processo cioè indubbiamente superiore a quello fototipico col quale sono riprodotte le mie positive.

Si osservi che la forma del corpo batterico appare nei miei preparati quale siamo abituati a conoscerla per le comuni colorazioni semplici, le quali, come è noto, fondandosi sul trattamento con colori basici di anilina, mettono in evidenza soltanto il nucleo della cellula batterica, mentre la membrana di solito resta incolore. Ciò non è per i metodi di Löffler e di van Ermengem, nei quali anche la parete cellulare assumendo più intensamente la colorazione ne risulta una modificazione della forma dei batteri che è specialmente evidente nelle riproduzioni fotografiche. Questa è forse la causa del differente aspetto che i batteri della medesima specie hanno nei miei fotogrammi e in quelli degli altri autori.

Le fotografie sono state eseguite da me con un ottimo apparecchio Koristka, grande modello, di cui il Prof. Guarnieri volle gentilmente concedermi l'uso. Ho adoprato l'oculare condensatore n° 4 e un obiettivo ad immersione omogenea di $^1/_{12}$. — Come sorgente luminosa mi ha servito benissimo una semplice lampada a incandescenza a gas, la cui luminosità è sufficiente perchè chi abbia una qualche pratica in materia di fotografia possa (con l'aiuto di una lente) mettere bene a fuoco l'immagine fino a un ingrandimento di più che 2000 diametri. Ho adoprato le buone lastre ortocromatiche Cappelli e come schermo colorato ho usato una leggerissima soluzione di bicromato di potassa versata nell'apposita vaschetta.

Gli annessi fotogrammi rappresentano le seguenti specie batteriche:

1. *Bacillo del tifo* (Ingrandimento di 1000 diam.)
2. *Bacillo del cholera* id. id.

3. *Bacillo piocianeo* (Ingrandimento di 1000 diam.)
4. *Bacillo della patata* id. id.
5. *Bacillo del tifo* (Ingrandimento di 2000 diam.)

III. — Conclusioni.

Dopo avere affermato — basandomi sull'opinione generale — che tutti i metodi in uso attualmente per la colorazione delle ciglia sono di esecuzione lunga, difficile, complicata, che hanno riuscita incerta e forniscono mediocri risultati, io sento il dovere di domandarmi: il processo da me indicato va completamente esente da questi difetti? Costituisce esso il metodo ideale, — facile, semplice, sicuro, che possa quindi soddisfare a qualche cosa di più che a una semplice curiosità naturalistica? — Prima di rispondere a questa domanda mi si permetta un breve confronto riassuntivo.

Per l'esecuzione del metodo di Nicolle e Morax — indubbiamente il più facile e il meno complicato di quelli fin qui noti — è necessario l'uso di un mordente di preparazione complessa e da rinnovarsi dopo pochi giorni: io lo sostituisco con una semplice soluzione alcalinizzata di tannino, conservabilissima. Alle tre o quattro mordenzature e successive colorazioni, inframmezzate da accurati lavaggi, io sostituisco una unica operazione della durata di pochi secondi, salvo poi, se la colorazione si voglia eseguire a freddo, a lasciare in riposo per qualche tempo il preparato.

Alla incertezza di riuscita, unanimemente lamentata da tutti gli AA. (per tutti i metodi conosciuti), io sostituisco una sicurezza di resultato nello stesso limite presso a poco delle comuni preparazioni micologiche.

Quanto al resultato della colorazione noto anzitutto che la memoria di Nicolle e Morax non è accompagnata da fotogrammi, ma da *semplici disegni*. Voglio ammettere — ciò che è universalmente negato dai varii AA. — che questo processo sia capace di fornire risultati uguali a quelli che si hanno

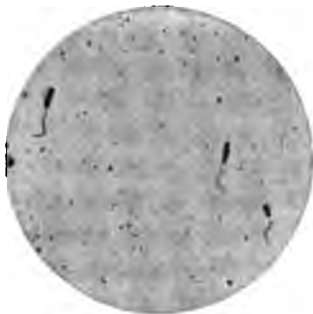
secondo i metodi di Löffler e di van Ermengem. Ebbene, per risparmiarmi di insistere ulteriormente sui pregi di chiarezza, di nitidezza e di evidenza dei miei preparati, io mi limito a far calda preghiera a chi legge, perchè voglia prendersi la pena di un confronto diretto tra le mie fotografie e quelle finora pubblicate. Si osservino i fotogrammi — veri fotogrammi e non disegni artificiosamente presentati — dei più recenti trattati di batteriologia (Günther, Migula), si veggano, ad es., le riproduzioni che accompagnano la memoria dell'Hinterberger pubblicata in uno degli ultimissimi numeri del *Centralblatt für Bakteriologie und Paras.* (loc. cit.), ed apparirà, spero, evidente che il mio metodo anche da questo punto di vista risulta superiore agli altri, ad onta della ricordata inferiorità della riproduzione fototipica.

Dalle mie ulteriori indagini sull'argomento, indirizzate sia allo studio morfologico delle ciglia di singole specie batteriche, sia alla ricerca di possibili applicazioni per la diagnosi differenziale, potrà risultare qualche nuovo perfezionamento della tecnica. Ad ogni modo, pur non volendo dare per ora una risposta assolutamente affermativa alla domanda fattami più sopra, mi sia lecito rilevare che col mio metodo un gran passo certamente si è fatto verso la soluzione del problema.

Pisa, Giugno 1900.



1



2



3



4



5

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 16.

Istituto di Anatomia patologica della R. Università di Padova
diretto dal Prof. A. Bonome.

RISPOSTA AD ALCUNE OSSERVAZIONI

AL MIO LAVORO

"SUI CARATTERI MORFOLOGICI DELLA CELLULA NERVOSA

DURANTE LO SVILUPPO,,

PEL

Dott. **Giovanni BOMBICCI**

Aiuto.

Dopo la pubblicazione del mio lavoro *Sui caratteri morfologici della cellula nervosa durante lo sviluppo* (1) diversi autori che della cellula nervosa si erano precedentemente interessati, o stavano allora occupandosene, scrissero in argomento, rivolgendomi osservazioni alle quali subito per ragioni di salute non potei rispondere. Oggi però che tali ragioni più non sussistono, mi affretto a farlo, per spiegare i fatti che diedero occasione ai summenzionati scritti, e per svolgere più ampiamente alcune idee che nel mio lavoro sono soltanto accennate.

Si tratta in primo luogo di un'accusa di omissione che mi rivolge il Prof. Morpurgo nella sua nota pubblicata in quest'*Archivio*, intitolata *Osservazioni al lavoro del dottor Bombicci: Sui caratteri morfologici*, ecc. (2).

(1) *Arch. per le Scienze med.*, 1898, n. 6.
(2) *Arch. per le Scienze med.*, 1899, n. 17.

Da questo scritto risulta un fatto principale del quale non ho che a compiacermi vivamente, e cioè che alcuni risultati dei miei studii, e in special modo quelli che riguardano l'aumento volumetrico e quantitativo della cellula nervosa rispetto alle diverse epoche della vita, trovano nel lavoro del Morpurgo e Tirelli una piena conferma che mi tranquillizza sopra la verità di quei fatti sui quali scrivendo ancora esitavo a pronunciarmi decisamente.

Questo è quanto più a me preme. Ma il Morpurgo mi addebita di non aver conosciuto il suo lavoro e di non averlo citato fra coloro che si occuparono dell'argomento.

Riguardo a questo, non posso contestare che l'analogia dei fatti che egli insieme al Tirelli ha potuto stabilire nel suo campo di studio con quelli che io potei verificare nel mio, non fosse grande e tale da impegnarmi, conoscendola, a dare al loro lavoro la considerazione che veramente gli spettava, quantunque le conclusioni criticate fossero soltanto un'appendice occasionale e non costituissero la parte essenziale del mio lavoro che si occupava principalmente della *morfologia* della cellula nervosa.

Sta però a maggior discolpa il fatto che i due campi di studio erano molto diversi. Egli col Tirelli si occupò dello sviluppo della cellula nervosa nei *gangli intervertebrali* del coniglio, mentre io eseguii questo studio nel *midollo spinale* del pollo, ed è ormai noto che tra gli elementi dei gangli e quelli del midollo, oltre le differenze di forma, volume ed esterna costituzione, altre ne esistono nella intima loro struttura, che furono specialmente rivelate dal Golgi colle precipitazioni d'argento, e che non permettono di estendere incondizionatamente ai primi quanto fu concluso nello studio dei secondi.

Altra accusa che mi rivolge il Morpurgo si è quella di avere ignorato i risultati di quelle ricerche sulle quali precipuamente si è fondato il Bizzozero nel caratterizzare la cellula ganglionare come *elemento perenne.*

Io dissi che questo nome si riferiva a quegli elementi che

rimangono *costanti ed immutati per tutta la vita.* S'intendeva elementi che non vengono sostituiti da altri nuovi.

Il Bizzozero nella sua opera *Accrescimento e rigenerazione dell'organismo* disse perenni quegli elementi *la cui moltiplicazione cessa precocemente nella vita embrionale, prima che essi abbiano assunto i loro caratteri specifici.* Ma questa idea include evidentemente l'altra della insostituibilità di quegli elementi nel periodo della vita che succede alla cessata moltiplicazione.

Io non trovo pertanto che nel periodo finale del mio lavoro, fosse siffattamente falsato il concetto fondamentale dell'illustre scienziato da giustificare un pubblico rimarco; trovo invece che il Morpurgo in questa seconda parte della sua critica ha voluto scendere troppo nel sottile, come lo ha voluto ancora di più nel mettere in rilievo la sostituzione della parola *perpetuo* a *perenne.*

Altri che mossero obiezioni alle mie conclusioni furono il dott. Fragnito ed il dott. Colucci (insieme al Piccinino) entrambi dell'Istituto Psichiatrico di Napoli.

Il primo nella sua nota preventiva intitolata: *La cellula nervosa rappresenta un'unità embriologica?* (1) così scrive: « Ultimamente ho avuto notizia di un recente lavoro di G. Bom- « bicci: *Sui caratteri morfologici della cellula nervosa du-* « *rante lo sviluppo*, nel quale è detto che la sostanza croma- « tica delle cellule nervose del midollo spinale viene prodotta « *in grembo al tessuto fondamentale del midollo*, e ad una « certa epoca di sviluppo embrionale si addossa ai neuroblasti « i quali fungono soltanto come centro di attrazione di questa « nuova sostanza protoplasmatica. Confesso di non aver ben « compreso il significato della frase *in grembo al tessuto fon-* « *damentale del midollo* e l'egregio Autore riconoscerà che « non sarebbe stata inutile un poco più di precisione. Nel « modo come egli si esprime, io, per non uscire dai confini

(1) *Annali di Nevrologia*, 1899, fasc. III.

« della dottrina cellulare debbo intendere che nel midollo spi« nale vi sieno cellule che segreghino la sostanza cromatica « e cellule che l'attraggono. E siccome, secondo l'A., i neuro« blasti l'attraggono, la virtù di segregarla non si può attri« buire che agli spongioblasti di His. Così questi elementi « che, secondo His ed altri avrebbero il modesto còmpito di « costituire una parte dello stroma di sostegno del nevrasse, « sarebbero ora assunti all'alto ufficio di fornire alla cellula « ganglionare uno dei più importanti suoi costituenti ».

Ed il Colucci nella sua memoria *Su alcuni stadii di sviluppo della cellula del midollo spinale umano* (1) parlando della sostanza protoplasmatica della cellula nervosa a pag. 12 dice: « Ma donde viene questa sostanza protoplasmatica? Il « Bombicci che si è fatta una tal domanda non mostra di « aver trovato una risposta conveniente ».

Non deve sorprendere se questo punto di così difficile soluzione ha destato l'interesse mio dapprima, e poscia quello dei due egregi collaboratori.

L'arrivare a scoprire di dove si generi la sostanza protoplasmatica della cellula, e in special modo quella della cellula nervosa, è un tal resultato che qualunque osservatore si lusingherebbe di raggiungere.

Il fatto che noi osserviamo in un midollo in via di sviluppo si è la comparsa della sostanza protoplasmatica intorno ai neuroblasti e l'aumento progressivo di essa. A me è sembrato già molto il poter decidere se questa nuova sostanza fosse un prodotto elaborato dal neuroblasta stesso, o da esso semplicemente fissato. La questione posta in questi termini (quantunque ardua) poteva sembrare accessibile ai mezzi d'indagine di cui disponiamo. E per mio conto credetti di poter concludere per un'apposizione di sostanza extranucleare in base ad alcuni fatti morfologici che ho riferiti dettagliatamente nella mia memoria, e che risultavano dall'esame diretto dei preparati isto-

(1) *Annali di Nevrologia*, 1900, fasc. II.

logici. — Escludendo che il neuroblasta preparasse il proprio protoplasma cellulare, io asserii che questo si formava invece nella sostanza *fondamentale* del midollo, valendomi di questa parola (non da me usata per la prima volta) (1) per evitare appunto di stabilire dati precisi di fatti che fino allora non risultavano dai miei studî. Avrei potuto dire nella *trama di sostegno* degli elementi, nella *nevroglia* o semplicemente nel *tessuto circostante*, a me bastava di stabilire che essa si formava *al di fuori* del neuroblasta. Non volli aspirare a maggior precisione per non cadere nel campo delle ipotesi, ove è più facile dar luogo ad infeconde contestazioni, che scoprire nuove nozioni scientifiche.

Il dott. Colucci non si pronunzia in merito a tal questione perchè il materiale da lui posseduto non era adatto a risolverla stante l'epoca inoltrata di sviluppo.

Il dott. Fragnito invece avanza una teoria sua propria, quella di una genesi pluricellulare, secondo la quale, la sostanza protoplasmatica che si addossa ad una data cellula germinativa (nucleo primario) proverrebbe dalla cromatina di cellule germinative prossime (nuclei secondarii) che subirebbero in tal circostanza speciali modificazioni. Il dott. Fragnito conviene quindi con me nell'ammettere una genesi *extranucleare* del protoplasma nervoso. Però sui più minuti particolari che egli accampa per spiegare la genesi di questo protoplasma, e che costituirebbero appunto la maggior precisione, io debbo avanzare fin d'ora le mie riserve fino a che nuovi lavori non avranno più ampiamente confermati i suoi reperti.

L'ipotesi del dott. Fragnito, teoricamente plausibile, non trova, a mio giudizio, un adeguato riscontro nell'osservazione dei fatti. Il gruppo costituito da una cellula germinativa (nucleo primario) circondato da nuclei secondarii, dovrebbe essere (data l'esattezza dell'ipotesi) un reperto comunissimo e

---

(1) Marinesco, ad es., parla di una sostanza *fondamentale* della cellula nervosa (*Pathologie de la cellule nerveuse*, pag. 27).

costante di ogni tessuto nervoso in via di formazione. Ogni cellula nervosa percettibile nella corteccia cerebrale o nella sostanza grigia spinale o nei gangli, dovrebbe, secondo il Fragnito, essere preceduta da uno stadio preparatorio che conduce alla distinzione di un nucleo primario in mezzo ai secondarii. Eppure questo reperto così saliente, non è apparso nè alle mie ripetute osservazioni, nè a quella dei tanti studiosi che trattarono prima di me l'argomento. Io ho veduto (ciò che il Fragnito omette di esporre nella sua nota) all'intorno di ogni cellula germinativa (capoverso n. 5, pag. 119) « *un pro-* « *toplasma delicato, amorfo, che possiede un lievissimo grado* « *di differenziabilità dalle altre parti del tessuto nervoso,* « *che diviene in seguito omogeneamente striato, che si sud-* « *divide in corpi cromatici circa al 15° giorno, e che rag-* « *giunge infine un fortissimo grado di differenziabilità* ». Io ho seguito grado grado le modificazioni che va subendo questo tenue protoplasma durante l'accrescimento della cellula, senza mai constatare la presenza dei nuclei secondarii osservati dal Fragnito.

Se adunque la teoria di una genesi pluricellulare può ammettersi per le fibre nervose per le quali la impossibilità di osservazioni sintetiche e complete lascia una certa alea all'ipotesi, e perchè la grande distanza che passa tra le porzioni periferiche delle fibre e i loro punti di origine, rende ammissibile l'esistenza di centri d'accrescimento multipli, non può, a mio avviso, sostenersi per la cellula, per la quale tali ragioni non esistono, il campo d'osservazione essendo limitatissimo, e le conclusioni dovendo quindi basarsi sopra fatti positivi, accessibili al facile controllo di ogni osservatore.

Attendiamo peraltro, prima di formulare ogni ulteriore e più concreto giudizio, di conoscere per esteso il lavoro del dott. Fragnito.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 17.

Istituto di Patologia generale della R. Università di Padova.
(Prof. I. Salvioli).

Dott. **Domenico TADDEI**
Aiuto di Patologia speciale chirurgica.

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA ISTO-FISIOLOGICA

DELLA

GHIANDOLA DELL'HARDER NEL CONIGLIO

(Tav. VIII)

La ghiandola dell'Harder, così detta dal nome del suo scopritore, il quale, la rinvenne (1) nell'anno 1694 nella cavità orbitale del cervo, era poi stata trovata in altri animali da Nebel (2) il quale ne aveva fatto iniezioni per il dotto escrettore e l'aveva sottoposta a un grossolano esame microscopico: ma poi il suo studio era stato, si può dire, abbandonato per tutto il secolo scorso.

Fu al principio di questo secolo che l'Angely (6) nel lepre la riconobbe divisa in due lobi (*Pars superior minor et albida, longe major et rubicunda inferior*): fatto, che poi riconosciuto anche nel coniglio, fu riportato da quasi tutti gli autori successivi, senza però che alcuno tentasse di approfondirne lo studio [Schreger (7), Cuvier (18), ecc.].

Blainville (8) la osservò nell'elefante, Müller (11) ne ripetè le iniezioni, la studiò al microscopio; Carus (12) e Trapp (13) ed altri ne ritenevano il secreto mucoso, come già l'Harder stesso; i molti altri autori che ne parlarono

fino al Wendt nel 1877, lo fecero pure tutti in modo assai superficiale riportando le quasi rudimentali conoscenze degli antichi.

Il primo lavoro, veramente ricco di minuziose ricerche fu quello del Wendt (33). Per l'importanza sua anche dal punto di vista, da cui noi consideriamo la ghiandola Harderiana, merita che su di esso ci fermiamo un momento. Lo studio fu fatto su molti animali. In molti rosicanti, secondo l'autore, la ghiandola dell'Harder corrisponderebbe a una ghiandola sebacea complicata: nei mammiferi si avvicinerebbe di più alla lacrimale: nel lepre e nel coniglio assumerebbe per la sua divisione in 2 lobi un posto di transizione. Nel coniglio l'autore accenna al vario colore, al vario rapporto in grandezza fra i 2 lobi: classifica la ghiandola tra le acinose composte: descrive i singoli acini come tondeggianti o irregolari, più grandi verso il centro, formati di una membrana propria con nuclei e di uno strato di cellule piramidali, finamente granulose nel lobo bianco, ripiene di gocciole, disposte in un regolare reticolo nel lobo roseo. Queste gocciole egli ritiene di grasso perchè annerirebbero con l'acido osmico. All'esame chimico della ghiandola trovò pure un grasso. La considera quindi come una ghiandola sieroso-grassa, rigettando l'idea di aver a che fare con una ghiandola mucosa. La secrezione avverrebbe senza distruzione di elementi: il secreto sarebbe espulso o per deiscenza della membrana cellulare o per trasmigrazione attraverso detta membrana mediante l'attività del protoplasma e non per eccessivo riempimento della cellula. Merita ancora di essere riportato un suo pensiero e cioè: che se si procurasse una secrezione affrettata, si rallenterebbe l'aderenza basale delle cellule che cadrebbero nel lume dell'acino insieme al secreto e si avrebbe per riempire il vuoto neoformazione di elementi. Secondo l'autore infine la secrezione aumenterebbe con la stimolazione della cornea e nella congiuntivite. Molte altre osservazioni il Wendt fa sulla struttura della membrana propria, sui dotti escretori, sui vasi, sui nervi, sullo sviluppo ecc., che per il nostro scopo non interessano e che quindi tralasciamo.

Siccome parecchi fatti sostenuti dal Wendt credo di aver ragione per ritenere errati o inesatti, così man mano che ci si presenterà l'occasione nel corso di questo studio dovremo su di essi più volte ritornare.

Il Krause (36) nella sua Anatomia del coniglio, sebbene si appoggi in gran parte alle idee del Wendt, aggiunge alcuni fatti sul peso della ghiandola, sul rapporto fra i 2 lobi, sulla reazione del secreto con l'acido osmico ecc. sui quali pure dovremo ritornare. Mac Leod studiò la ghiandola nell'anitra (35) e nella pecora (36).

Loeventhal studia la Harderiana del riccio (43) (reaz. osmica del secreto positiva); le varietà d'aspetto delle cellule l'autore fa dipendere dallo stato di riposo o di attività e dimostra una distruzione cellulare in seguito alla funzione; sebbene abbia trovato rare mitosi.

In questi ultimi tempi lo studio della ghiandola dell'Harder si rivolse principalmente a un altro punto di vista: quello filogenetico.

Sardemann (37-38) fa scopo delle sue ricerche la filogenesi cominciando dalla salamandra. Piersol (40) studia la ghiandola negli anfibî. Peters (41) nel camaleonte, nella *testudo graeca*, nei gallinacei, nel coniglio (in cui si trova d'accordo con il Wendt), nel porco, nel bue. Esclude sia da ritenersi identica all'Harderiana la ghiandola trovata da Giacomini (*) nella plica semilunare di un indiano.

In un lavoro successivo (44) a quello suaccennato il Loewenthal studia la struttura dell'Harderiana nel sorcio bianco (reaz. osmica positiva), nella cavia (reaz. osmica negativa), nel coniglio (in cui per la reaz. osmica si avrebbe annerimento del reticolo, che sta attorno alle gocciole), nel maiale, nel vitello. Distingue la ghiandola dell'Harder da quella, che egli chiama della 3ª palpebra e che si trova anche nel coniglio, concludendo che tanto dell'una che dell'altra non esiste un tipo comune.

(*) Giacomini, « Annotaz. sull'anat. del negro », III.

Bizzozero e Vassale (39) accennano che nell'Harderiana non si riscontrano mitosi.

Recentemente Lor (46) in un lavoro sulle ghiandole dell'orbita del coniglio accenna appena all'Harderiana.

Non mi fu possibile trovare i lavori di Miessner (42) e Taillens (45).

Da questi brevi cenni biografici risulta evidente che sulla struttura e funzione della ghiandola dell'Harder le opinioni degli autori non sono concordi. La ragione principale di questa divergenza di idee, deve, secondo me, dipendere dal fatto che le osservazioni furono fatte non sempre sullo stesso animale; dalla lettura di quei lavori però nasce anche il sospetto che i varii osservatori sieno arrivati a conclusioni diverse perchè essi studiarono le ghiandole in diversi periodi della loro funzione, oppure nelle condizioni di assoluto riposo. Per queste considerazioni non credetti inutile occuparmi io pure di tale argomento nella speranza di potere portare un qualche contributo alla conoscenza tanto della struttura di questo apparecchio ghiandolare, quanto delle modificazioni che in esso avvengono durante la secrezione.

La ghiandola dell'Harder studiai esclusivamente nel coniglio adulto e per questo esame seguii due metodi: alcune volte cioè, quando mi limitavo all'esame istologico dell'organo, uccidevo l'animale ed estraevo ambedue le ghiandole che fissavo con diversi reattivi, altre volte invece quando mio scopo era di rilevare le modificazioni funzionali, estirpavo dal vivo la ghiandola d'un lato, e, dopo compiuta l'esperienza, quella dell'altro lato, e ciò allo scopo di avere termini di paragone esatti. Usai i più svariati metodi di tecnica istologica, onde mettermi al riparo, per quanto è possibile, da qualsiasi causa di errore.

La ghiandola dell'Harder nel coniglio si trova nella parte postero-interna della cavità orbitale in relazione con la terza palpebra. Facilmente si distingue a occhio nudo la sua dispo-

sizione lobulare e i 2 lobi notati dall'Angely: uno, per lo più, meno grande: bianco latteo; l'altro: roseo. Il loro rapporto in grandezza trovai sempre assai variabile e non come dice il Krause nella proporzione di 1 a 3.

Un fatto, che io reputo di una certa importanza, che non trovai da alcuno notato e su cui torneremo in seguito è il seguente: mentre il colorito del lobo bianco è sempre uniforme, quello del lobo roseo presenta invece spesso delle *nuances* di colorito pel fatto che fra i lobuli rosei ve ne sono altri isolati o anche riuniti di colorito più chiaro, anzi talora affatto bianchi.

La linea di divisione fra i due lobi è più o meno netta; ma tanto tra i lobi come fra i varî lobuli esiste solo un rapporto di contiguità, sicchè con la stessa facilità si possono con 2 pinze dividere lobuli da lobuli, lobi da lobi.

Il peso della ghiandola fu da me trovato sempre di molto superiore a quanto asserisce il Krause (gr. 0,36) e cioè da 0,60 fino a gr. 1,10 e ciò senza relazione col peso dell'animale, ma piuttosto, come vedremo, con la funzione.

La ghiandola Harderiana appartiene, come è già noto, alla categoria delle ghiandole acinose composte ed infatti, esaminando sezioni praticate tanto sulla parte bianca che sulla rosea, si notano spazî irregolarmente tondeggianti separati da scarso tessuto connettivo, limitati da una membrana propria e rivestiti da uno strato unico di cellule, le quali, come succede in molte altre ghiandole, sono più o meno alte a seconda che sono più o meno distese dal secreto. Non potei constatare mai che gli acini centrali siano più ampi. Essi sono disposti assai irregolarmente: per lo più interi lobuli sono ad acini di grandezza discretamente uniforme, mentre vicini se ne trovano altri composti di acini di grandezza assai varia.

Una vera differenza tra le due porzioni sta nella struttura delle cellule epiteliali che tappezzano gli acini. Nella parte rosea esse sono, come ben le descrisse il Wendt, costituite da un protoplasma a forma di reticolo, nelle cui maglie stanno le gocciole di secreto, di cui tutta la cellula è ripiena. Non è però, come vuole il Wendt, regolarissimo questo reticolo.

Talora in esso si possono trovare dei vacuoli, che per la loro costante presenza e per il loro variare di numero e di grandezza in speciali condizioni funzionali (come vedremo) non si possono ritenere dovuti a fatti artificiali.

Il reticolo si colora facilmente con tutte le sostanze coloranti comuni; le gocciole invece non si colorano affatto, come appunto vide il Wendt, nè col carminio, nè coll'ematossilina. Saranno esse costituite di sostanza grassa?

Abbiamo visto che sui risultati della reazione con acido osmico i varî autori non sono d'accordo. Negativa è per il Krause nel coniglio, per il Loeventhal nella cavia e nel coniglio — in cui invece si colorerebbe il reticolo « cosicchè « le gocciole sembrerebbero attorniate da mezze lune nere o « da anelli neri » — positiva per il Wendt nel coniglio, per il Loeventhal nel riccio, nel sorcio bianco, ecc.

Per parte mia dirò che per quanto riguarda il coniglio, nè con acido osmico in soluzione all'1 $^{0}/_{0}$ anche per molte ore, nè con acido osmico ed allume, nè col metodo dell'Unna per la colorazione del sebo, ottenni mai in queste gocciole la colorazione nera caratteristica del grasso, sebbene il preparato in massa assumesse una tonalità di tinta brunastra, come succede di ogni altro tessuto tenuto in acido osmico. Se si adopera una soluzione idro-alcoolica di Sudan III (*), che come è stato dimostrato dal Daddi, ha una grandissima affinità pel grasso, le gocciole tanto nei preparati per dilacerazione che nelle sezioni assumono una bellissima tinta aranciata. Stando a quest'ultimo reperto si dovrebbero considerare queste gocciole come costituite da grasso. Siccome però mancavano le altre reazioni caratteristiche, e per me era di grande interesse conoscere la costituzione di tali elementi, così ho creduto conveniente unire all'esame istologico, anche un esame chimico (triturazione, spappolamento in etere, lavatura ripetuta in etere,

(*) Daddi, « Nuovo metodo per la colorazione del grasso nei tessuti » (*Giorn. della R. Accademia di Medicina di Torino*, anno 59°, n. 2, pag. 87-90 ed in *Arch. Ital. Biol.*, 26, 1896, pag. 143).

filtrazione, evaporazione nel vuoto, saponificazione con potassa caustica all'alcool). Questo esame fu praticato al contrario di quanto fece il Vendt su parti bianche e su parti rosee accuratamente separate. Da esse potei facilmente isolare una sostanza grassa, di lucentezza e consistenza butirracea, che saponificata diventa giallo-cupa, interamente solubile in acqua calda e da cui con H^2SO^4 si possono separare acidi grassi (butirrico, caproico, caprilico). Rimane quindi confermato che le gocciole contenute nel protoplasma di queste cellule sono costituite di sostanza adiposa.

I nuclei per lo più rotondi od ovalari presentano un reticolo cromatico evidente, uno, raramente due nucleoli, si colorano intensamente, sono per lo più ricacciati verso la membrana propria dell'acino eccentricamente.

Gli acini piccoli alle sezioni si trovano vuoti; nei più grandi si trovano talvolta dei cumuli di goccioline, resti filamentosi, precipitati varii dovuti ai reattivi usati.

Gli elementi della parte bianca assomigliano per forma, grandezza e disposizione a quelli finora descritti; ma spiccano per la maggiore affinità per le sostanze coloranti e perchè manca in essi quel caratteristico reticolo a larghe maglie, che si trova nelle cellule precedenti.

Non si può però accettare l'opinione del Wendt e del Krause, che cioè questi elementi siano costituiti da protoplasma granuloso: anche in queste cellule il protoplasma ha certamente una disposizione reticolata con maglie molto più fine e sottili che quelle degli elementi della parte rosea, di modo che ad un esame poco profondo si può avere l'impressione di una sostanza granulare.

Dentro alle maglie di questo reticolo stanno delle piccolissime goccioline che si possono mettere benissimo in evidenza dilacerando un pezzetto dell'organo fresco, goccioline che dimostrano di avere una composizione uguale a quelle dell'altro lobo, perchè si colorano bene col Sudan III, mentre anche esse non risentono l'azione dell'acido osmico, e perchè all'esame chimico della porzione bianca della ghiandola si

ricava una sostanza grassa identica a quella estratta dalla porzione rosea dello stesso organo.

Dunque ambedue i lobi secernono uno stesso grasso e l'elemento ghiandolare è in ambedue i lobi reticolato: il risultato negativo della ricerca microchimica con acido osmico non è sufficiente per escludere la presenza di un grasso.

Anche i nuclei di questi elementi finissimamente reticolati sono tondeggianti, regolari, eccentrici, ricchi di sostanza cromatica ben netta con un solo nucleolo. In qualche acino grande si ha un contenuto finissimamente reticolato o amorfo.

Prima di lasciare l'istologia della ghiandola debbo fare menzione di due fatti che reputo di una certa importanza e che non trovai notati da alcun autore.

Se si esaminano le ghiandole, che come accennai macroscopicamente presentano *nuances* di colorito e lobuli bianchi interposti fra i rosei, si possono vedere tra acini con cellule a grande reticolo, acini con cellule a reticolo finissimo, le cui maglie sono spesso meno fine e quindi più nette. Vedremo in seguito l'importanza di questo fatto non comune nelle ghiandole dell'Harder, in cui anzi per lo più si trova un netto distacco tra le due specie di cellule costituenti i due lobi e cercheremo di darne l'interpretazione.

Un altro reperto singolare che si ha per lo più sopra cellule a fino reticolo (ma che in seguito mi fu dato di osservare anche sopra cellule a grande reticolo) è dato (Fig. 1, *a-b-c*) da bottoni simili a gemme o a clave sormontanti la faccia della cellula, che guarda il lume dell'acino, per lo più senza occupare tutta la linea di detta faccia (*a-b*). Essi appaiono senza struttura speciale, si colorano in modo omogeneo e diffuso debolmente. Talora fra essi e l'elemento si vede la membrana cellulare, talora invece questa è meno manifesta. Si trovano più frequenti in acini grandi a cellule non molto alte e spesso nello stesso acino molte cellule ne sono provviste.

Il fatto di essere omogenei, di averli trovati in esperienze successive anche su l'altra specie di cellule, talora staccati o in atteggiamento di staccarsi come mezzi dischetti, fa esclu-

dere l'ipotesi che tali bottoni rappresentino cupole di cellule poste in un piano diverso del preparato. L'aspetto loro, la loro affinità, benchè debole, per tutte le sostanze coloranti, il non colorarsi con il Sudan fanno escludere che si tratti di gocciole di grasso.

Essi sembrano piuttosto molto simili a quelle gocciole descritte da Bizzozero-Vassale (*) sulle cellule della ghiandola mammaria secernente di cavia: « Nella cavia si vede assai bene « come le cellule ghiandolari emettano dalla loro superficie « libera delle gocciole di sostanza albuminosa jalina che esse « versano nel lume delle vescicole ».

Neppure le esperienze che istituii e che sto per riferire, mi diedero modo di stabilire con certezza il significato loro. Si potrebbe forse con qualche fondamento ritenere tali bottoni come l'espressione di una secrezione secondaria dell'elemento ghiandolare. Io ad ogni modo mi limito alla semplice loro constatazione.

I fatti nuovi trovati nello studio istologico, mi ispirarono maggiore fiducia in una serie di ricerche, intese a stabilire le modificazioni, che la funzione apportava negli elementi ghiandolari.

Dopo varî tentativi per ottenere un aumento di lavoro funzionale (introduzione di corpi estranei, pulviscolo di carbone nel sacco congiuntivale) sull'esempio di Reichel, Bizzozero, Vassale, Heidenheim ecc., ricorsi anch'io alle iniezioni sottocutanee di idroclorato di pilocarpina.

Sperimentai sempre su conigli adulti. Iniettai dapprima un dcg. di idroclorato di pilocarpina in un grammo d'acqua dopo avere tolta la ghiandola di un lato e tamponata la cavità orbitale. Quando già i sintomi d'avvelenamento generale erano assai gravi, dopo $^3/_4$ d'ora, 1 ora, tolsi l'altra ghiandola.

Macroscopicamente si aveva che il lobo bianco era più pic-

(*) *Arch. per le scienze med.*, vol. XI, 1887, pag. 240.

colo e meno nettamente limitato verso il lobo roseo: le *nuances* di colorito di quest'ultimo più manifeste.

All'esame microscopico sia nei preparati per spappolamento, sia con l'acido osmico e con il Sudan III ottenni sempre gli stessi risultati già riferiti e su questi reperti quindi non insisterò più.

Nelle sezioni della parte rosea si trovano gli acini in prevalenza grandi: ma il loro lume è piuttosto ristretto perchè le cellule si sono fortemente innalzate assumendo un aspetto veramente a clava in molti punti (Fig. 2-*a*): mentre verso la parte basale sono addossate e schiacciate tra loro, verso la parte, che guarda il lume dell'acino sono a cupola ed ingrossate: in qualche acino questo aspetto si può trovare più accentuato in una parte e le cellule così riunite danno l'aspetto come di un ventaglio.

In alcune cellule di quelle meno alte si trova qualche vacuolo per lo più centrale, mentre quelle claviformi sopra descritte hanno un reticolo ben conservato e abbastanza regolare.

Poche modificazioni subiscono le cellule a fino reticolo; anch'esse si sono innalzate (Fig. 2-*b*) senza però assumere per lo più un aspetto così decisamente clavato: il reticolo intracellulare si può in molti punti riconoscere con maggior evidenza perchè le maglie sono un po' più chiare e più nette.

Ma il reperto che più spicca è quello che ho trovato al limite fra le due parti della ghiandola. Esso non è che l'esagerazione di un fatto, che abbiamo già visto esistere nella ghiandola normale; vale a dire, si trovano in maggior numero fra acini fortemente colorati con cellule a fino reticolo, interposti irregolarmente acini con cellule dell'altra specie (Fig. 2). Vi è però ancora di più: in uno stesso otricolo ghiandolare si possono vedere le due specie di cellule continuarsi (Fig. 2-*c*) con un trapasso più o meno netto le une nelle altre. Si hanno così delle figure con cellule fortemente colorate della parte bianca tappezzanti $^1/_3$-$^1/_2$-$^2/_3$ di uno acino, che per il resto è tappezzato da cellule a grande reticolo. Tale aspetto è visibile con ogni colorazione, ma meglio di tutte con il metodo di Van Gieson.

L'interpretazione di questo fatto mi pare chiara pensando all'identità chimica da me dimostrata, del secreto delle due parti dell'organo. Esso rappresenterebbe una tendenza alla trasformazione delle cellule a fino reticolo in quelle a grande reticolo intracellulare mediante l'ingrandimento delle sue maglie in seguito al rapido e forte eccitamento funzionale.

Partendo allora dal concetto che la dose iniettata desse un eccitamento funzionale notevole ma poco duraturo, perchè l'animale non sosteneva l'avvelenamento per più di un'ora, pensai di iniettare dosi di idroclorato di pilocarpina frazionatamente facendo iniezioni di 2-3 ctg. ogni 3-5 ore. Per tal modo potei studiare ghiandole di conigli sottoposti all'azione della pilocarpina per 8-29-43-52 ore.

Debbo notare innanzi tutto che il peso della ghiandola trovai spesso diminuito dopo le iniezioni in confronto della ghiandola dell'altro lato estratta prima.

L'aspetto della ghiandola ed il rapporto delle due porzioni si modificano grandemente: così in un coniglio mentre la ghiandola estratta prima dell'esperienza aveva le due porzioni ben distinte per colorito e ben delimitate e la parte bianca stava alla rosea nel rapporto di 1 a 2, dopo 8 ore di azione della pilocarpina l'altra ghiandola mostrava il lobo bianco ridotto della metà (cioè il rapporto fra parte bianca e rosea stava come 1 a 4) e nel lobo roseo lobuli e gruppi di lobuli bianchi in discreto numero frapposti ai lobuli rosei, sicchè si aveva un aspetto grazioso, come di mosaico. Anche alla sezione dell'organo si aveva lo stesso aspetto.

Questo reperto macroscopico, il quale non rappresenta del resto che un'esagerazione di quello già da me descritto in alcune ghiandole normali, mi pare che concorra sia col reperto microscopico descritto al limite tra i due lobi dell'esperienza precedente, sia con la identità del secreto, sia con la presenza di reticolo nelle cellule di ambedue i lobi a confermare il concetto della trasformazione funzionale delle cellule a fino in quelle a grande reticolo.

Al microscopio lobuli con acini a cellule a fino reticolo, però

abbastanza netto e a maglie meno minute, stanno interposti tra lobuli con elementi a maglie più grandi. In qualche punto si possono vedere anzi lobuli formati di acini con cellule a reticolo non ampio come nelle cellule a gocciole, ma neppure così fino come nelle cellule fortemente colorate delle ghiandole, che diremo normali, quasi si può dire, di grandezza intermedia. Non riuscii però ad avere aspetti come nella fig. 2-*c*, ciò che secondo me si deve mettere in rapporto con la eccitazione funzionale più lenta, che avevo prodotta e con il molto maggior tempo (5 ore) che era trascorso dall'ultima iniezione al momento, in cui avevo tolta la ghiandola.

Gli acini sono grandi ed il loro lume è ingrandito per l'abbassamento delle cellule, fattesi cubiche e in qualche punto anche meno che cubiche. Molto più spesso si trovano acini e talora interi lobùli, nei quali le cellule sono vacuolizzate come per fusione di parecchie gocciole e per scomparsa dei tratti reticolari intermedî (Fig. 3).

La faccia interna della cellula è spesso non ben limitata, ma irregolare, disgregata, fatto che del resto era possibile vedere anche in alcuni punti all'esame istologico della ghiandola, non sottoposta all'azione del veleno. Negli acini in cui le cellule sono più basse la vacuolizzazione è anche maggiore (Fig. 5) tanto che del reticolo possono restare solo le maglie periferiche.

Mentre nelle cellule più alte e con minori vacuoli, i nuclei sono discretamente conservati con netta sostanza cromatica, nelle cellule vacuolizzate i nuclei si trovano deformati irregolari, diffusamente colorati: si riescono malamente a distinguere in alcuni i cromatosomi ed il nucleolo così ben evidenti per lo più nei preparati precedenti. Nuclei bitorzoluti, deformati, colorati diffusamente si possono vedere nell'interno di acini, in cui qualche cellula fortemente vacuolizzata si può trovare priva di nucleo.

Analogo aspetto dei nuclei il Loeventhal descrisse nella Harderiana normale del riccio e con lui io sono disposto a ritenerlo dato da vera cariolisi, specialmente per il fatto che

essa si accompagna ad una profonda alterazione cellulare: alterazione, che va sempre più esagerandosi quanto più venne protratta l'azione della pilocarpina. Arriva un momento in cui l'elemento cellulare è completamente perduto; ma allora in queste ghiandole che hanno fortemente funzionato si possono vedere delle cariocinesi nei diversi stadî (Fig. 4-*a*); fatto questo che nelle ghiandole normali non era stato possibile riscontrare nè a Bizzozero-Vassale, nè agli altri, nè a me.

In confronto alle numerose cellule alterate, che sopra descrissi, le mitosi non sono molto abbondanti. Si possono trovare sia in acini con cellule vacuolizzate e basse, sia in acini con cellule a fino reticolo ed accanto a loro si possono vedere delle cellule tondeggianti per lo più riunite a due, finissimamente e indecisamente reticolate (Fig. 4-*b*), con nucleo piccolo, ricco di sostanza cromatica, che debbono essere senza dubbio considerate come cellule giovani.

Un altro fatto che non posso lasciare sotto silenzio è l'esistenza dei bottoni omogenei, che descrivemmo sormontare elementi a fino reticolo nella ghiandola normale, non solo su questi elementi, ma anche su elementi a grande reticolo, vacuolizzati, bassi, talora in atteggiamento di staccarsi (Fig. 5), talora come mezzi dischetti nell'interno dell'acino insieme a detrito cellulare.

Poco mi dilungherò nel descrivere le alterazioni dell'elemento ghiandolare dopo azione della pilocarpina protratta per 29-43-52 ore.

In una ghiandola di un coniglio sottoposto per 43 ore alla azione del veleno oltre che lobuli e isole di lobuli bianchi interposti tra la parte rosea ebbi occasione macroscopicamente di notare due lobi bianchi, uno a un polo e l'altro all'altro polo dell'organo abbastanza bene limitato.

Al microscopio gli acini sono in generale ingranditi: questo ingrandimento si può spiegare a parer mio, come del resto è opinione degli autori, che studiarono la funzione di organi ghiandolari, con l'accumulo del secreto nell'acino e con l'abbassamento degli elementi.

In molti preparati si possono trovare cellule cubiche e meno che cubiche quasi piatte e queste solamente negli acini a lume assai ampio.

La vacuolizzazione degli elementi è molto più grande e frequente. Non sono rari gli elementi senza nucleo ridotti a poche maglie reticolari periferiche. Man mano che le cellule sono più basse si presentano in generale anche più alterate. In qualche punto si possono vedere delle cellule assai basse (Fig. 6) con limiti cellulari così poco marcati da dare l'impressione di uno strato protoplasmatico continuo debolmente colorato, omogeneo, addossato alla membrana propria, in cui a distanze più o meno uniformi si trovano nuclei ovali-irregolari, deformati, con asse maggiore disposto quasi per adattamento parallelo alla membrana propria: tali nuclei sono diffusamente colorati. Tale deformazione e colorazione diffusa dei nuclei è del resto assai comune: anche fra i resti di secreto che si trovano nell'interno di qualche acino si possono vedere di questi nuclei così alterati.

In altri acini si hanno cellule basse senza limiti, spesso sprovviste di nuclei, ma reticolate, come accumuli amorfi di sostanza reticolata: qualche acino si può vedere tappezzato per una parte da uno strato reticolato e per il resto da uno strato cellulare omogeneo come quello sopradescritto.

Si possono infine trovare acini ghiandolari limitati in tutto o in parte dalla sola membrana propria sprovvista completamente o in qualche tratto di elementi. Considerate le gravi alterazioni degli elementi, mi pare probabile che le cellule abbiano perdute le connessioni tra loro e con la membrana propria e quindi facilmente, con le operazioni di tecnica istologica, si siano staccate.

Non riuscii in queste ghiandole sottoposte ad assai protratta azione della pilocarpina a dimostrare forme certe di cariocinesi e cellule giovani.

Ad ogni modo mi parve dimostrato che con la pilocarpina si produce una distruzione di elementi e ritenni quindi inutile fare esperienze, nelle quali l'azione del veleno fosse più a lungo protratta.

Dopo avere accennato finalmente che accanto ad acini e lobuli con così profonde alterazioni si trovano acini e lobuli meglio conservati, ciò che è dovuto certamente al lavoro non contemporaneo di tutte le parti dell'organo, mi pare sia ora venuto il momento di riassumere brevemente i risultati di questo lavoro, accontentandomi per alcuni fatti della semplice constatazione, non essendomi stata possibile una interpretazione accettabile in modo assoluto.

CONCLUSIONI.

1ª Identità chimica del secreto delle due parti della ghiandola dell'Harder nel coniglio. Questo secreto è un grasso non colorabile con acido osmico. Non si può ritenere che la ghiandola sia a secrezione sieroso-grassa.

2ª Esistenza di un reticolo a maglie assai fine nelle cellule della parte bianca: in queste maglie stanno minime goccioline di grasso. È da rigettarsi l'opinione di avere a che fare, come fin qui era ammesso, con cellule granulose.

3ª Trasformazione delle cellule a fino reticolo in quelle a grande reticolo per ingrandimento delle maglie del primo. È da notarsi che i fatti sia macroscopici che microscopici, che dimostrano questo fatto, si hanno anche all'infuori di ogni eccitamento funzionale artificiale.

4ª Distruzione degli elementi cellulari in seguito a protratta eccitazione mediante idroclorato di pilocarpina.

5ª Comparsa di cariocinesi e cellule giovani dopo discretamente protratta eccitazione artificiale.

6ª Esistenza di bottoni a struttura omogenea sormontanti alcune cellule con le modalità sopra descritte (Probabile secrezione albuminosa secondaria).

Riguardo alle modificazioni successive che l'elemento ghiandolare subisce per il fatto dell'eccitazione funzionale, mi pare di poter dire che esse avvengano così. Le cellule a fino reticolo possono trasformarsi in quelle a grande reticolo: le goc-

cioline di secreto aumentano di volume; la cellula s'innalza finchè il secreto si versa nell'acino, il cui lume s'ingrandisce sia per la pressione eccentrica del secreto stesso, sia per l'abbassarsi degli elementi: questi successivamente si vacuolizzano; il nucleo va in cromatolisi, gli elementi si distruggono e con tutta probabilità vengono sostituiti da elementi preesistenti per mezzo della scissione mitotica.

Prima di lasciare questo lavoro mi sento il dovere di ringraziare vivamente l'illustre sig. prof. Salvioli, nel cui laboratorio compii queste ricerche ed alle quali egli stesso mi diede indirizzo e guida.

BIBLIOGRAFIA

1. — I. I. Harder, « Acta eruditorum », Lipsiae, 1694.
2. — D. S. Nebel, « Miscellanea curiosa », Lipsiae, 1696, pag. 292.
3. — Nuck. Lugd. Batav., 1722.
4. — Heucker, Lipsiae, 1745.
5. — Locker, Lugd. Batav. 1761.
6. — Angely, Erlangen, 1803, pag. 22.
7. — Schreger, Leipzig, 1810, pag. 32.
8. — De Blainville, Paris, 1822, pag. 272-393.
9. — Leifert, *Diss. inaug.*, Berolini, 1823.
10. — Meckel, Halle, 1829.
11. — I. Müller, Lipsiae, 1830.
12. — G. Carus, Leipzig, 1834.
13. — Wagner, Leipzig, 1834.
14. — H. A. Trapp, Turici, 1836.
15. — Hofmann, « De gland. Harder. in lepore ».
16. — Lichold und Stannius, Berlin, 1845.
17. — Leideler, Berolini, 1847.
18. — Cuvier, Paris, 1847, T. II-III.
19. — Bergmann und Leuckart, Stuttgart, 1853.
20. — V. Carus, Leipzig, 1857.
21. — G. Carus e D'Alton, *Erläuterungstaf. z. vergl. Anat.*
22. — Blumberg, Dorpat, 1867.
23. — Blumenback, *Handbuch. d. vergl. Anat.*
24. — Owen, London, 1868.

25. — Gegenbauer, Leipzig, 1870.
26. — Schmidt O., Jena, 1871.
27. — Huxley, London, 1871.
28. — Rimer Jones, London, 1871.
29. — Milne-Edwards, Paris.
30. — Gegenbauer, 1874.
31. — Grant, *Outlines of comp. Anat.*
32. — Krause, 1876.
33. — Wendt E. C., « Ueber d. Harder'sche Druse d. Säug », Strassburg, 1877.
34. — Mac Leod Jules, 1880, *Arch. de Biolog.*, t. 1, pag. 45-46.
35. — Id. 1880, id. id. t. I, pag. 57-60.
36. — Krause, « Die Anat. d. Kanninckens », Leipzig, 1884.
37. — Sardemann E., *Zool. Anzeiger*, 1884, H. 179.
38. — Id., *Berich. d. nat. Gesellsch. zu Freiburg*, 1887, t. III.
39. — Bizzozero e Vassale, *Arch. per le Sc. med.*, 1887, vol. XI.
40. — Piersol G. A., *Arch. f. mikr. Anatomie*, t. XXIX.
41. — Peters A., *Arch. f. mikr. Anatomie*, t. XXXVI.
42. — Miessner H., *Deuts. Zeitsch. f. Thiermed. u. vergl. Path.*, 1892, t. 18.
43. -- Loeventhal, « Notiz über die Harder'sche Druse des Igels », 1892, *Anat. Anz.*, Iahrg. 7.
44. — Id., Beitrag. ecc., 1892. — *Anat. Anz.*, Iahrg. 7.
45. — Tailleus, *Annales des sciences phis. et nat. de Genève*, 1893, t. 29.
46. — Lor, *Journ. de l'Anat. et Phis.*, Paris, 34ᵉ année.

NB. Furono tralasciati in questo indice bibliografico i manuali e le opere di anatomia comparata di questi ultimi 20 anni, essendo il loro numero enorme e le notizie tolte dalle riportate monografie originali.

Spiegazione delle Figure.

Fig. 1. — Koritska. Ocul. 3. Ob. Imm. $^1/_{12}$. — Cellule a fino reticolo.
a-b-c Bottoni simili a gemme o a clave sormontanti la faccia della cellula, che guarda il lume dell'acino.

Fig. 2. — Koristka. Ocul. 3. Ob. 8. Pilocarp. 1 ora.
Fra acini fortemente colorati con cellule a fino reticolo sono interposti irregolarmente acini con cellule a grande reticolo.
c, Nello stesso acino ghiandolare si vedono le due specie di cellule continuarsi le une nelle altre.

Fig. 3. — Koristka. Ocul. 2. Ob. 8. Pilocarp. 5 ore.
Cellule a grande reticolo con vacuoli.

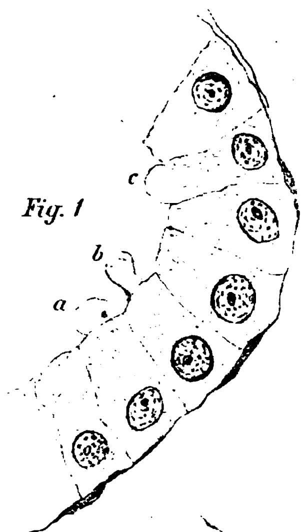
Fig. 4. — Koristka. Ocul. 3. Obb. imm. $^1/_{12}$. Pilocarp. 8 ore.
a, Cariocinesi.
b, 2 cellule giovani riunite, a protoplasma indecisamente e finissimamente reticolato, con nucleo piccolo, ricco di sostanza cromatica.

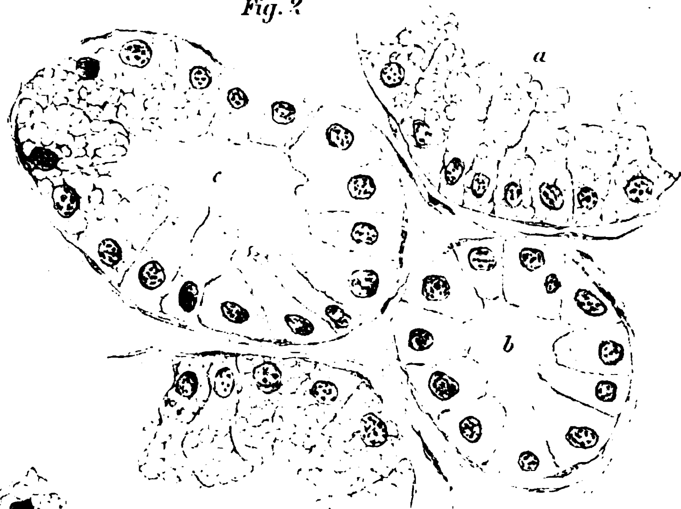
Fig. 5. — Koristka. Ocul. 4. Ob. 8. Pilocarp. 29 ore.
Cellule a grande reticolo, basse ed assai vacuolizzate, con nuclei deformati. Su alcuna si vede il bottone omogeneo in atteggiamento di staccarsi, simile a un mezzo dischetto.

Fig. 6. — Koristka. Ocul. 4. Ob. 8. Pilocarp. 43 ore.
Acini con cellule assai basse, quasi omogenee, con limiti così poco marcati da dare impressione di uno strato protoplasmatico continuo: nuclei in cromatolisi.

G. Bizzozero, *Direttore Responsabile.*

To.ino — Tipografia Vincenzo Bona.


Fig. 1
c
b
a


Fig. 2
a
c
b

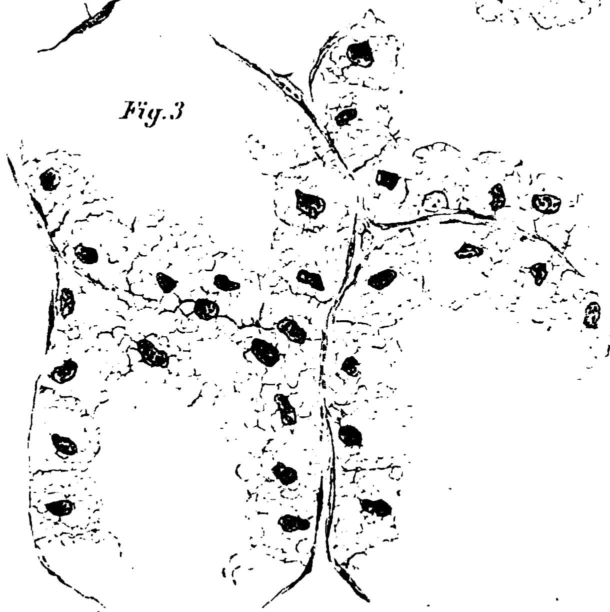
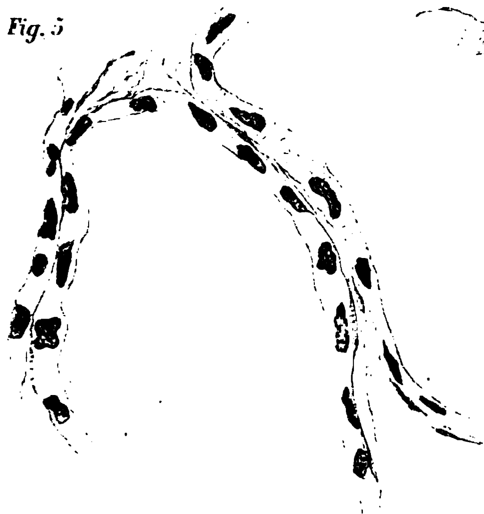
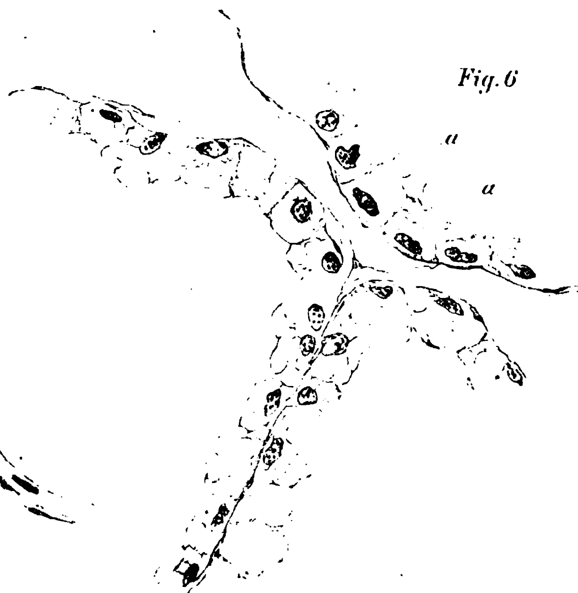

Fig. 3


Fig. 4
a
b


Fig. 5


Fig. 6
a
a

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 18.

Istituto di Fisiologia della R. Università di Padova
(diretto dal Prof. A. Stefani).

ASPORTAZIONE DEI CANALI SEMICIRCOLARI.

ALTERAZIONI CONSECUTIVE NELLE CELLULE DEI NUCLEI BULBARI E DEL CERVELLETTO

Nuovo Contributo
alla conoscenza delle terminazioni centrali del Nervo Acustico negli uccelli
e alla fisiologia dei Canali Semicircolari

pel
Dott. **Umberto DEGANELLO**
Aiuto.

(Tav. IX)

Dietro consiglio del Prof. Stefani mi sono proposto di rilevare, *col metodo di Nissl*, lo stato delle cellule nervose che si trovano nella regione acustica del bulbo e nel cervelletto dei colombi, previa asportazione dei canali semicircolari; e di porre in rapporto i dati del reperto istologico coll'intensità della lesione prodotta, e quindi coi sintomi presentati in vita dagli animali.

L'argomento da me trattato ha, per conseguenza, interesse e dal lato anatomico e dal lato fisiologico.

Già in un precedente lavoro rilevai (1), *col metodo di Marchi*, le degenerazioni che si manifestano nelle fibre nervose in seguito alla suddetta lesione periferica, praticata pure nei colombi. Nella bibliografia di quel lavoro non tenni conto di una pubblicazione del Wallenberg (2) apparsa sull'*Anat. Anz.* nell'aprile 1898, e che mi fu possibile di vedere soltanto ora.

Credo quindi mio dovere riparare a detta dimenticanza, quantunque la stretta attinenza che a prima vista parrebbe avesse quel lavoro, a giudicare dal titolo, col mio, si attenua dopo la lettura del medesimo.

Infatti il Wallenberg in quella pubblicazione (2) tratta, si può dire per incidenza, del *nervo vestibolare*, occupandosi in speciale maniera del *nervo cocleare* e limitandosi esclusivamente alla parte anatomica della questione. Il modo con cui Wallenberg ha proceduto nelle sue ricerche fu il seguente:

Con un ago ledeva il nucleo a grosse cellule del *cocleare*, ma prima di arrivare a detto nucleo egli infiggeva l'ago lungo il margine dorso-laterale destro della superficie cerebellare, press'a poco nel suo punto mediano; affondava quindi l'ago un po' obliquamente dal lato dorsale al lato ventrale, dal lato cefalico al lato caudale e verso il lato mediale fino all'angolo dorso-laterale della metà destra del bulbo. Il Wallenberg conclude che in tal modo l'ago distruggeva nel suo tragitto le seguenti parti: la corteccia e la sostanza midollare del cervelletto nella località punta — il nucleo cerebellare esterno destro nella sua metà mediale (rimanendo solamente sfiorato il nucleo interno) — il plesso coroideo del 4° ventricolo — il tronco cocleare alla sua entrata nel nucleo a grosse cellule — i due terzi laterali di questo nucleo (a quest'altezza piccolissimo) e la sua parte ventrale fino alla radice intrabulbare del IX, nella quale regione è compreso il campo dell'acustico. — La puntura, aggiunge l'A., termina al margine ventrale di questo campo ed ha probabilmente leso anche le cellule dei resti del cordone posteriore, in quella località che è attraversata dalle radici del vago. Dopo eseguita tale operazione, nel colombo, passava all'esame dei pezzi secondo il metodo di Marchi.

Wallenberg da queste sue ricerche conclude che il nucleo a piccole cellule non sembra in rapporto col nervo cocleare, ma che d'altra parte non lo giudica omologo all'oliva superiore dei mammiferi, come voleva Brandis (3), avendolo tro-

vato sempre intatto dopo lesioni limitate soltanto al cervelletto. Inoltre l'A. rilevò l'esistenza di rapporti, in via diretta o crociata, fra i nuclei dell'acustico e i nuclei dei nervi motori dell'occhio: abducente, oculo-motore comune, trocleare. Riscontrò pure connessioni dell'acustico col midollo spinale, poichè potè seguire delle fibre degenerate dal campo dell'acustico fino nel midollo cervicale, lungo i fasci longitudinali posteriori d'ambo i lati.

Il Wallenberg pubblicò recentemente un altro lavoro (4) sullo stesso argomento occupandosi, questa volta, specialmente delle vie centrali del *nervo vestibolare* nei colombi.

L'A. ledeva, con un ago, le fibre del nervo vestibolare situate all'interno del ganglio vestibolare: per fare tale lesione spingeva l'ago rasente al margine laterale della superficie caudale del cervelletto, in direzione ventro-laterale, sfiorava il nucleo angolare e distruggeva, dorsalmente, le fibre del cocleare, ventralmente, il nervo vestibolare. Esaminava in seguito i pezzi secondo il metodo di Marchi e concludeva che le fibre del nervo vestibolare terminano:

a) nel campo acustico, nel cervelletto e nella regione caudale del bulbo (radice bulbo-spinale del vestibolare);

b) nella sostanza grigia centrale medialmente al nucleo a grosse cellule;

c) nel nucleo dell'abducente d'ambedue i lati, nel nucleo del trocleare del lato opposto, e specialmente nel nucleo dell'oculo-motore comune del lato opposto;

d) nel nucleo del XII del lato opposto, e nel corno anteriore del midollo cervicale pure del lato opposto.

e) Si possono inoltre seguire fibre dirette del vestibolare fino nei cordoni anteriori, antero-laterali e postero-laterali del midollo cervicale in ambo i lati.

f) Fasci diretti del vestibolare, col corpo restiforme, si portano al cervelletto e terminano nel nucleo centrale d'ambedue i lati, e forse nella corteccia pure d'ambo i lati. — Questa è la « via cerebellare sensitiva diretta dell'acustico » (di Edinger).

I risultati anatomici cui è arrivato il Wallenberg nell'ultimo lavoro confermano quelli già da me ottenuti (1) per ciò che riguarda il decorso del *nervo vestibolare* nel bulbo, e i suoi rapporti col cervelletto; io però trovai che la degenerazione delle fibre, dopo l'asportazione dei canali semicircolari, non oltrepassa l'estremità caudale del bulbo, nè mi fu possibile, con quelle ricerche, di riscontrare i rapporti, cui accenna il Wallenberg, fra il nervo vestibolare e i nuclei di altri nervi cerebrali, rapporti che, a bene precisarli, non mi sembra troppo adatto il metodo di Marchi. La diversità della lesione istituita da me e dal Wallenberg può spiegare benissimo i fatti in più che egli ottenne, trattando questo argomento.

Come ultimi importanti contributi alla conoscenza intima del sistema nervoso centrale degli uccelli ricordiamo i lavori di Friedländer (5), di Edinger e Wallenberg (6), di Boyce (7), di Münzer e Wiener (citato da Boyce (7)), ma in ognuno di questi lavori o non si parla affatto del *nervo vestibolare* o solamente lo si accenna.

Per lo studio del *nervo vestibolare* negli uccelli, fu applicato dagli AA. *il metodo delle degenerazioni sperimentali solamente affine di stabilire il decorso delle fibre nervose* (Brandis-Wallenberg-Deganello): detto metodo non venne mai applicato, finora, per lo studio degli elementi cellulari costituenti i nuclei che hanno rapporti con quel nervo, se si eccettui un solo lavoro pubblicato da A. Stefani e Weiss (8), nel quale troviamo descritte delle alterazioni che furono riscontrate nelle cellule di Purkinje del cervelletto in seguito ad asportazione, nei colombi, dei canali semicircolari: dette cellule di Purkinje presentavano un aspetto cereo, omogeneo, un' aumentata fragilità del protoplasma e una non indifferente resistenza all'azione delle sostanze coloranti. Inoltre lo Stefani (8) notò in qualche colombo operato d'ambo i lati, che le due lamelle posteriori del cervelletto presentavano, macroscopicamente, un colorito giallastro ed erano ridotte di volume: all'esame microscopico trovò gli elementi di quella località in preda ad avanzata degenerazione grassa.

Le presenti ricerche si possono considerare come un complemento di quelle che già furono fatte da me (1) e da altri [(2)-(3)-(4)] per stabilire *il decorso delle vie vestibolari degli uccelli*. Credo che esse abbiano anche un interesse d'indole generale nella *fisio-patologia del neurone*, poichè toccano l'argomento del passaggio della degenerazione da un neurone all'altro finitimo (*degenerazioni terziarie* di Sherrington, *propagate* di Durante, *trasmesse o combinate* di Klippel, *indirette* di Kohnstamm).

I *colombi* oggetto del mio esame furono *otto* e vennero gentilmente operati dal Prof. A. Stefani di asportazione unilaterale o bilaterale dei canali semicircolari (*). Essi venivano poi lasciati in vita per un tempo variabile da *15* a *55* giorni, indi il *bulbo* e il *cervelletto* dei medesimi erano esaminati microscopicamente secondo il *metodo di Nissl*, metodo che, per quanto mi consta, non venne finora applicato da alcuno nello studio delle vie centrali dell'acustico.

Come fissatore fu usato sempre il sublimato in soluzione satura, e come sostanze coloranti furono adoperate la tionina, il bleu di toluidina, il bleu di metilene.

Affine di evitare possibili cause di errore nell'interpretazione dei reperti citologici ho usato l'avvertenza di tenere, in qualche caso, negli stessi ambienti (indicati per la fissazione, l'indurimento e l'inclusione) pezzi omologhi di colombo normale e di colombo operato; di più quando passai alla colorazione dei tagli appiccicai sullo stesso vetrino sezioni omologhe di colombo normale e di colombo operato, per cui sì le une che le altre subivano l'identico trattamento nei diversi passaggi per la colorazione: in tale guisa mi sembra che il confronto fra la sezione normale e la sezione corrispondente del colombo operato offrisse le massime garanzie di esattezza.

Praticando il metodo suddetto, ho potuto mettere nella più

(*) A quelli devo aggiungere anche l'esame microscopico del bulbo e del cervelletto di *due colombi normali*, il quale mi servì di confronto nel giudicare il reperto istologico dei colombi operati.

chiara evidenza i *nuclei bulbari acustici* del colombo, li ho seguiti per tutta la loro estensione e ne ho osservato i più minuti particolari: perciò credo non superfluo occuparmi brevemente dei medesimi, descrivendo anche quelli che appartengono alla branca cocleare.

Nuclei bulbari del Nervo Acustico dei colombi normali.

Tubercolo acustico (Fig. 1 *ta*). — Esso è perfettamente omologo al tubercolo laterale dei mammiferi (S. Ramon y Cajal-Brandis-Wallenberg). Nei colombi è assai bene sviluppato: giace proprio sul decorso del *nervo cocleare*, subito prima del suo ingresso nel bulbo. Il tubercolo alla sua estremità caudale è situato lungo la porzione più esterna del nervo e dista dalla periferia del bulbo circa mm. 0,3, misurando ivi il suo massimo diametro (posto nella direzione dell'asse maggiore del nervo) una lunghezza di mm. 0,7 circa; a questo punto consta di 3-4 strati di cellule. Di mano in mano che ci portiamo verso la sua estremità cefalica, il tubercolo acustico si avvicina sempre più al bulbo di cui sfiora la periferia, e si estende per un tratto sempre maggiore tra i fasci nervosi del cocleare, finchè arriva a invadere tutto lo spessore di detto nervo, le cui fibre sembra lo attraversino per entrare tosto nel bulbo (Fig. 1 *ta*).

A questo livello le cellule del tubercolo sono disposte in 6-7 strati concentrici, di cui il più prossimale rasenta la periferia del bulbo, senza però mai oltrepassarla: il tubercolo assume ivi una forma che si può rassomigliare a quella dell'epididimo (Fig. 1 *ta*) avente il suo margine distale convesso e parallelo alla metà corrispondente della periferia del bulbo, il margine prossimale concavo è applicato direttamente alla periferia del bulbo.

Le cellule che lo costituiscono hanno forma rotondeggiante o elittica, qualcheduna è piriforme; il loro diametro maggiore varia fra 13-19 e 26 μ, sono ricche di sostanza cromofila, per cui molte assumono il tipo di cellule oscure (Fig. 2).

Nella massima parte delle cellule la sostanza cromatica appare sotto forma di zolle ampie, distribuite egualmente tanto alla periferia che al centro del corpo cellulare: ne risultano elementi fortemente colorati (Fig. 2). — In altre cellule le zolle cromatiche sono disposte fittamente su una o due file intorno ed in vicinanza al nucleo, mentre la parte periferica del corpo cellulare appare assai meno ricca di zolle cromatiche. — In altre vi è una disposizione inversa alla precedente, le zolle cromatiche perinucleari sono situate specialmente alla periferia del corpo cellulare, mentre è più chiara la parte centrale del medesimo. — Altre cellule infine presentano una fila di zolle cromatiche alla periferia e un'altra intorno al nucleo, e tra le due file uno spazio chiaro. — Il nucleo cellulare trovasi spesso verso la periferia.

Nucleo a grosse cellule (*Nucleo vestibolare posteriore di Cajal*) (Fig. 1 *ngc*). — Esso nucleo appartiene al *nervo cocleare* e corrisponde al nucleo ventrale o accessorio dell'acustico dei mammiferi (Brandis-Deganello).

A partire dall'estremo caudale del bulbo questo nucleo appare prima del *nucleo a piccole cellule* (v. avanti): comincia in basso a livello del tubercolo acustico, ed è situato nella regione dorso-laterale del bulbo avendo al suo lato mediale il nucleo triangolare di Cajal (Fig. 1 *ngc-ntc*). Quando poi appare nelle sezioni ulteriori il nucleo a piccole cellule (Fig. 1 *npc*), che gli è posto ventralmente, resta come abbracciato dalla semiluna formata dagli elementi cellulari di quello.

Quanto più ci portiamo verso l'estremo cefalico, mentre va aumentando il numero delle cellule costituenti il nucleo semilunare va diminuendo quello delle cellule del nucleo in discorso che, verso l'estremo caudale consta di numerosi elementi.

Del *nucleo a grosse cellule*, allorquando il nucleo a piccole cellule ha raggiunto il suo massimo sviluppo, non rimane altro che una piccola parte della sua porzione prossimale, finchè anch'essa scompare del tutto un po' prima della scomparsa del nucleo a semiluna.

Il *nucleo a grosse cellule* presenta una forma irregolarmente ovale allungata, col diametro maggiore situato nel piano trasversale.

Le cellule che lo costituiscono hanno il diametro maggiore che varia da 13 a 20 μ, con prevalenza però di queste ultime, sono di forma rotondeggiante ed ovale, rimangono debolmente colorate dalla tionina e dal bleu di toluidina (Fig. 4), per cui appartengono al tipo delle cellule chiare: la sostanza cromofila, scarsa, è qui rappresentata da piccolissime zolle delicate, ora sotto forma di granuli, ora sotto forma di filamenti sottili circondanti il nucleo, situato spesso alla periferia (Fig. 4).

Nucleo a piccole cellule (*Nucleo vestibolare anteriore di Cajal. — Oliva superiore di Brandis. — Nucleo a semiluna*) (Fig. 1 *npc*). — Questo nucleo secondo alcuni AA. non appartiene al nervo acustico (Brandis-Wallenberg), ma rappresenta *l'oliva superiore dei mammiferi* (Brandis); ad ogni modo, siccome la questione non è ancora risolta, credo opportuno dirne qualche cosa.

Come sopra fu detto, il nucleo in discorso appare, partendo dall'estremo caudale del bulbo, dopo il nucleo a grosse cellule: facilmente lo si riconosce pel modo speciale con cui si dispongono le cellule che lo costituiscono, cioè sopra un'unica fila disposta ad arco, o a semiluna, in direzione trasversale, nella regione dorso-laterale del bulbo: la concavità che esso forma è rivolta verso il lato dorsale del bulbo ed abbraccia il nucleo a grosse cellule. A cominciare dall'estremo caudale portandoci verso il cefalico, l'arco di questo nucleo va facendosi sempre più lungo e a raggio più breve, e sempre più ricco di elementi: ma ciò fino a un certo limite soltanto, oltre il quale, l'arco si accorcia mentre il raggio si allunga, i suoi elementi diminuiscono di numero e infine scompaiono.

Le cellule che lo costituiscono si tingono debolmente, e appartengono quasi tutte al tipo delle cellule chiare. Il loro diametro maggiore oscilla fra 6-9 e 12 μ, con prevalenza delle prime. La loro forma è un po' varia, per lo più allungata, col

diametro maggiore diretto generalmente in senso sagittale: la sostanza cromatica in alcune è disposta, a file concentriche, intorno al nucleo, in altre invece è disposta a striscie parallele al diametro maggiore della cellula, mentre uno strato di sostanza cromatica copre in parte la periferia del nucleo, formando il cappuccio nucleare di Nissl (Fig. 3).

Campo dell'acustico (Fig. 1 *ca*). — In esso si trovano parecchie cellule disseminate tra le fibre a decorso orizzontale, le quali ultime occupano un tratto piuttosto ampio e appartengono al *nervo vestibolare* (Fig. 1 *ca*).

Le cellule sono un po' grandi (diametro maggiore 19-26 μ), di forma varia, per lo più ovale allungata, alcune poligonali: parte di esse appartiene al tipo delle cellule scure (quelle situate verso la periferia), parte al tipo chiaro (quelle situate verso il centro).

Nucleo dell'abducente (Fig, 1 *n*VI). — Descrivo brevemente anche questo nucleo, sebbene non appartenga alle vie acustiche, perchè le cellule che lo costituiscono furono trovate alterate nei colombi operati.

Esso comincia (partendo dall'estremo caudale del bulbo) a livello della porzione più alta (cefalica) del nucleo a piccole cellule, lateralmente al rafe mediano bulbare (*): ivi comincia con poche cellule, che vanno poi aumentando di numero quanto più ci portiamo verso l'estremo cefalico.

Se supponiamo diviso il rafe mediano di una sezione trasversale del bulbo in 3 parti eguali, detto nucleo è situato, ai lati del rafe, per la massima parte in corrispondenza al 3° dorsale di detto rafe, invadendo anche una minima porzione del suo terzo mediale. Le cellule che lo costituiscono sono poche e raggruppate in uno spazio piuttosto piccolo, di forma ovale; sono per lo più poligonali, col diametro maggiore di 20-30 μ.,

---

(*) Faccio notare che il nucleo del VI quale è disegnato nella Fig. 1 appartiene a una sezione più elevata (più vicina all'estremo cefalico del bulbo) di quella da cui fu tolto tutto il resto della Fig. 1.

e lasciano scorgere per breve tratto l'origine dei loro prolungamenti. Appartengono prevalentemente al tipo chiaro e la sostanza cromatica è disposta parte intorno al nucleo, a striscie sottili, e parte in direzione parallela al decorso dei prolungamenti (Fig. 5 *n*).

In base alle ricerche di Brandis (11) il nucleo in discorso, e per la topografia e per la forma, rappresenta il nucleo d'origine del nervo abducente: ciò è chiaramente visibile anche nei preparati alla Weigert-Pal, da me eseguiti in altra occasione.

Nel descrivere la *sintomatologia dei colombi operati* seguirò, come già altra volta, quella data dallo Stefani (9), distinguendola in due periodi, che, per maggiore chiarezza, qui nuovamente riassumo:

1° PERIODO. — Subito dopo l'operazione si osservano i seguenti fenomeni: attitudine di sbalordimento, tendenza a cadere sul lato corrispondente alla lesione, a starsene rincantucciato appoggiandosi al muro col lato offeso; tendenza del capo a piegarsi verso il lato opposto; inettitudine al volo. Due o tre giorni dopo l'operazione questi sintomi vanno più o meno attenuandosi, e il colombo si conserva in questo stato apparentemente normale per un tratto di tempo che va da 4 a 30 giorni. Questo periodo non manca mai, e ad esso succede (però non sempre) il

2° PERIODO. — In alcuni colombi, nei quali la lesione fu leggera e unilaterale, questo 2° periodo può mancare affatto, per cui l'animale non offre più, in seguito, alcun che di notevole.

In questo periodo si vede l'animale, sia durante alcuni movimenti volontarii (mangiare, bere, lottare, ecc.), sia in seguito ad eccitazioni che lo impauriscono, venire colto improvvisamente da una violenta torsione del capo e del collo, in modo che il becco è rivolto verso l'alto e la volta del cranio in basso, appoggiata sul pavimento, quivi rimanendo immobile,

o abbandonandosi poi a movimenti regressivi, in linea più o meno curva, o rotatorii intorno all'asse longitudinale del corpo; tali torsioni del capo sono intermittenti e durano per lo più tutta la vita. L'animale è inetto al volo e alcune volte anche alla prensione del cibo.

In base ai criterii che mi hanno guidato nello studio di questo argomento, i colombi da me esaminati si possono dividere nelle seguenti quattro serie:

I Serie. — A questa appartengono i colombi A e B, ai quali furono asportati due canali semicircolari (il coronario e l'orizzontale) di un solo lato. Furono tenuti in vita, dopo l'operazione, 55 giorni: presentarono soltanto i fenomeni del *1° periodo* e anch'essi poi si attenuarono progressivamente, in modo che i colombi tornarono quasi normali negli ultimi giorni che furono lasciati in vita.

II Serie. — È composta dei colombi C e D. Anche essi subirono l'identica lesione dei colombi della 1ª serie ; furono lasciati in vita 42 giorni dopo l'operazione.

Il *colombo D* presentò soltanto i fenomeni del *1° periodo;* nel *colombo C* invece, dopo 4 giorni dall'operazione comparvero i fenomeni del *2° periodo* (torsioni caratteristiche del capo, ecc.), *in forma però attenuata,* e quelli dopo 25 giorni dall'operazione cominciarono a mitigarsi in modo progressivo, fino a scomparire del tutto dopo 32 giorni dall'operazione.

Negli ultimi giorni di vita i colombi C e D assunsero un contegno quasi eguale a quello dei colombi normali.

III Serie. — Di questa serie fanno parte i colombi F e G. Essi subirono l'identica lesione dei colombi delle due serie precedenti.

Appena operati presentarono i sintomi del 1° periodo ; ma dopo 4-6 giorni a quelli succedettero i sintomi del *2° periodo,* che andarono progressivamente aggravandosi.

Furono uccisi il colombo F, dopo 15 giorni, e il colombo G dopo 19 giorni, mentre era persistente ed intensa la sintomatologia del 2° periodo.

IV Serie. — Ai colombi E ed H, di questa serie, furono asportati due canali semicircolari (il coronario e l'orizzontale) in ambedue i lati.

Dopo 6-8 giorni dall'operazione presentarono intensi i fenomeni del 2° *periodo*, durante il quale furono uccisi, il colombo E alla distanza di 20 giorni dall'operazione, il colombo H dopo 17 giorni.

Vengo ora a descrivere il *reperto microscopico* del bulbo e del cervelletto dei colombi operati: tanto l'uno che l'altro furono tagliati in serie, ed esaminati secondo il metodo di Nissl.

I Serie (Colombi A e B).

Furono operati il 14 marzo 1900: il decorso della ferita fu normale. Vennero uccisi il 8 maggio 1900.

Nulla di notevole all'autopsia.

Esame microscopico del bulbo. — È fatta segno di speciale esame la regione acustica di quest'organo, facilmente riconoscibile, specialmente per la presenza del caratteristico tubercolo acustico. Le cellule sparse nel campo dell'acustico e quelle appartenenti al nucleo semilunare, sulle quali per prime rivolsi la mia attenzione, parvero completamente normali, non solo pel confronto fra una metà e l'altra del bulbo dei colombi operati, ma anche pel confronto con sezioni corrispondenti di bulbo appartenente a colombo normale, il quale bulbo era stato trattato colle cautele già altrove riferite.

Soltanto in corrispondenza del nucleo dell' abducente (Fig. 1 *n*VI) appartenente al lato operato mi fu possibile di vedere qualche cellula (specialmente di quelle a forma poligonale) nella quale era scomparsa la differenza fra sostanza cromatica e acromatica del citoplasma, per cui esso si presentava omogeneo e molto pallido (Fig. 5 *a*), il nucleo più o meno spostato verso la periferia: eravi insomma una cromatolisi incipiente, che prendeva origine, per lo più, dalla periferia del citoplasma.

Anche in grembo al nucleo del VI appartenente al lato sano

si scorge qualche cellula con caratteri di cromatolisi, ma in numero minore.

Questo è quanto si osservò nel bulbo sia del colombo A che del colombo B.

Esame microscopico del cervelletto. — Esso fu sezionato in serie, a cominciare dal suo estremo caudale verso l'estremo cefalico. Ma i suoi elementi, in ogni regione, nulla presentavano di notevole.

II Serie (Colombi C e D).

Furono operati il 4 maggio 1900; normale fu il decorso della ferita. Vennero uccisi il 15 giugno 1900. Nulla di notevole all'autopsia.

Esame microscopico del bulbo e del cervelletto. — All'esame del bulbo furono riscontrate, nelle cellule del nucleo dell'abducente, alterazioni analoghe a quelle descritte pei colombi della 1ª serie. Nel cervelletto nulla di notevole.

III Serie (Colombi F e G).

Il colombo F fu operato il 19 giugno 1900, e ucciso il 4 luglio. Il colombo G fu operato addì 7 giugno e ucciso il 26 giugno.

Normale, in tutti e due, fu il decorso della ferita e nulla di notevole si riscontrò all'autopsia.

Esame microscopico del bulbo. — Anche qui si trovarono le stesse alterazioni, già sopra descritte, nelle cellule poligonali del nucleo dell'abducente d'ambo i lati, ma più manifeste dal lato operato. Tutto il resto normale.

Esame microscopico del cervelletto. — Nelle sezioni appartenenti alla regione più caudale di quest'organo (il 3° caudale) si trovarono, tanto nel colombo F che nel colombo G, alcune cellule purkinjane che avevano manifestamente i caratteri di una alterazione di struttura: alcune erano sformate, coi margini irregolari, dentellati, con nucleo che riempiva quasi tutta la cellula, il cui citoplasma era ridotto a una sottile striscia di sostanza cromatica, omogenea, perinucleare (Fig. 6 *a*). Qualche altra cellula di Purkinje invece era forte-

mente rattrappita, non vi si distingueva alcuna traccia di nucleo e di nucleolo, i suoi margini erano irregolari e il suo volume ridotto della metà.

Di tali cellule si scorgevano tanto nel lato sinistro che nel lato destro, in mezzo ad altre che erano perfettamente normali; e di mano in mano che ci portavamo verso l'estremo cefalico del cervelletto le cellule alterate diminuivano di numero, finchè scomparivano prima di arrivare alla sua porzione mediale.

IV Serie (Colombi E e H).

Il colombo E fu operato addì 7 giugno 1900: gli vennero asportati due canali semicircolari (coronario e orizzontale) in ambedue i lati: venne ucciso il 26 giugno.

Il colombo H fu operato di asportazione dei due soliti canali dal lato sinistro il 9 luglio 1900, e dal lato destro il 14 luglio 1900. Venne ucciso il 26 luglio.

Normale fu il decorso della ferita in ambedue.

Nulla di notevole si trovò all'autopsia del colombo H; invece all'*autopsia del colombo E* fu notato, nel cervelletto, il seguente reperto degno di nota.

Reperto macroscopico del cervelletto del Colombo E. — Sulla superficie caudale di quest'organo, che in parte appoggia sulla faccia dorsale del bulbo (pavimento del 4° ventricolo) si scorgono tre lamelle, aventi direzione trasversale, che spiccano sul rimanente della sostanza nervosa pel loro colorito giallognolo. Fra le due lamelle superiori o dorsali si vede chiaramente una sottile striscia di colorito grigio-scuro. Le tre striscie di colorito giallo dopo avere attraversato tutta la superficie caudale del cervelletto si dirigono ventralmente, continuandosi per breve tratto lungo i peduncoli cerebellari posteriori, nei quali terminano con una leggera sfumatura giallognola.

Il colorito giallo delle tre lamelle si approfonda, per circa 1 mm., in grembo alla sostanza del cervelletto.

Esame microscopico del bulbo. — In quest'organo furono

trovati, tanto nel colombo E che nel colombo H, gli identici fatti descritti pei colombi delle serie precedenti.

Esame microscopico del cervelletto del Colombo E. — Sulle sezioni della metà caudale del cervelletto, tanto nel lato sinistro che nel lato destro, si scorgono parecchie cellule di Purkinje in preda ad alterazioni di grado diverso: ve ne sono alcune in cui il citoplasma, debolmente colorato, ha aspetto perfettamente omogeneo (cromatolisi incipiente), in altre invece, la forma è affatto diversa dalla normale, i margini sono irregolari, il nucleo in alcune è scomparso, in altre è vescicoloso, rigonfiatosi quasi a spese del citoplasma (Fig. 6*a*): in molte il volume è fortemente diminuito, in altre rimane invariato.

Trattando alcune di quelle sezioni coll'acido osmico si pongono in rilievo dei granuli tinti fortemente in nero, che occupano il protoplasma della cellula; detti granuli poi restano colorati in rosso col Sudan III, per cui riesce facile stabilire che quelle cellule di Purkinje sono in preda alla degenerazione grassa.

Il numero delle cellule di Purkinje alterate va diminuendo quanto più si procede dall'estremo caudale verso l'estremo cefalico, e verso la metà del cervelletto sono completamente scomparse.

Esame microscopico del cervelletto del Colombo H. — Furono riscontrate nelle cellule di Purkinje alterazioni quasi identiche a quelle notate nei colombi F e G (III Serie), e per ciò credo superfluo descriverle.

Una lesione macroscopica del cervelletto simile a quella del Colombo E fu rilevata, come già ho detto, da Stefani e Weiss (8) pure in colombi operati da 13-70 giorni nei canali semicircolari d'ambo i lati.

Ed analogamente a quanto opinava in proposito lo Stefani (9), io ritengo che essa non sia la conseguenza di un processo infettivo-infiammatorio: anzitutto perchè il decorso della ferita (fatta segno, come tutte le altre, di accurata osservazione)

fu sempre normale, nè si riscontrò mai in essa la minima reazione locale (d'altra parte è noto come questi animali siano poco suscettibili delle comuni infezioni traumatiche), poi perchè l'atto operativo fu eseguito osservando le regole antisettiche, e infine perchè l'alterazione era nettamente limitata a quella ristretta regione del cervelletto, mentre tutto il resto, compreso il bulbo, che è a quello aderente, si conservava normale.

Nè credo che detta lesione sia la conseguenza di un' alterazione di circolazione (trombosi, embolia, ecc.), perchè la località su cui si opera, tolta la cute, è assai scarsa di vasi sanguigni, per cui, spesso, l'atto operativo riesce quasi incruento. Ma la considero come una degenerazione trasmessa nel senso di Klippel (10), come il propagarsi cioè della degenerazione da un neurone all'altro vicino.

Anche le alterazioni riscontrate nelle cellule del nucleo dell'abducente io considero come effetto del passaggio della degenerazione da un neurone sensitivo (quello del nervo vestibolare) a un neurone motore (quello dell'abducente), o per lo meno come l'effetto di una modificazione, forse solamente d'indole chimica, che subisce la cellula del neurone motore dopo che fu sottratta a quell'afflusso normale di stimoli che le erano apportati dal neurone sensitivo, e che servivano a destare almeno parte della sua attività.

Osservo poi che il passaggio della degenerazione da un neurone sensitivo a uno motore è un fatto già notato e dimostrato da altri (Klippel (10), Warrington (12)).

Nel mio caso, il reperto riguardante il nucleo dell'abducente concorda coi risultati ottenuti da Wallenberg (4), il quale dimostrò che le fibre del nervo vestibolare di un lato terminano nel nucleo dell'abducente d'ambedue i lati.

Il non avere trovato alterazioni nelle cellule di alcun altro nucleo del bulbo, ci fa ammettere come probabile che un buon numero di protoneuroni del *vestibolare* dei colombi si porti direttamente al cervelletto, e precisamente alla sua corteccia: quindi la massima parte delle *fibre vestibolari* aventi rap-

porto coi due canali semicircolari — coronario e orizzontale — (eccettuate quelle che si portano al nucleo dell'abducente) andrebbe a formare *la via cerebellare diretta dell'acustico* (di Edinger).

Ed ora un' altra breve osservazione: Se si prendono in esame i colombi operati delle tre prime serie, si nota che tutti subirono l'identico (almeno apparentemente) atto operativo: (asportazione di due canali semicircolari, coronario e orizzontale, del solo lato sinistro) ma mentre quelli delle due prime serie presentarono lievi alterazioni soltanto nelle cellule del nucleo dell'abducente, i colombi della 3ª Serie, oltre alle suddette presentarono manifeste alterazioni nelle cellule di Purkinje del cervelletto: notiamo subito però che anche la sintomatologia fu rispettivamente diversa nelle varie serie di animali.

Difatti mentre i colombi delle due prime serie subirono soltanto il *1° periodo* sintomatologico (*), quelli della 3ª serie presentarono anche i gravi fenomeni del *2° periodo*: nei primi l'alterazione riscontrata al microscopio si limitò soltanto alle *cellule del nucleo dell'abducente*, nei secondi furono trovate manifestamente alterate anche le *cellule di Purkinje* appartenenti al 3° caudale del *cervelletto*.

Sotto questo riguardo i colombi della 3ª serie si avvicinano di molto a quelli della 4ª (asportazione bilaterale dei due soliti canali semicircolari — comparsa del 2° periodo sintomatologico — alterazioni nelle cellule di Purkinje, oltre che nel nucleo dell'abducente).

Circa poi alla causa per cui i colombi della III Serie, che subirono l'identico atto operativo di quelli delle due prime serie, abbiano presentato, a differenza di questi, anche il 2° periodo sintomatologico, non ci crediamo in grado, in base ai fatti fin qui noti, di poterla enunciare.

(*) Si noti che il colombo *C*, della II Serie, presentò anche il *2° periodo* sintomatologico (v. pag. 11); ma esso fu di forma piuttosto leggera, tanto che andò in seguito dileguandosi, fino a scomparire del tutto già *10* giorni prima della morte.

Spiegazione delle Figure.

Fig. 1. — Rappresenta la metà destra del Bulbo di colombo normale, a livello del tubercolo acustico. (Metodo di Nissl. — Fiss. in sublimato. — Col. Bleu di toluidina).

- ***rm*** — **rafe mediano.**
- ***ntc*** — **nucleo triangolare di Cajal.**
- ***ngc*** — **nucleo a grandi cellule.**
- ***npc*** — **nucleo a piccole cellule.**
- ***n*VI** — **nucleo del VI paio. — (Il nucleo del VI quale è qui disegnato appartiene a una sezione più alta (più vicina all'estremo cefalico del bulbo) di quella da cui fu tolto tutto il resto della Fig. 1).**
- ***ca*** — **campo dell'acustico.**
- ***ta*** — **tubercolo acustico.**

Fig. 2. — Cellula scura del tubercolo acustico.

Fig. 3. — Cellula appartenente al *nucleo a piccole cellule*.

Fig. 4. — Cellula ovale appartenente al *nucleo a grandi cellule*.

Fig. 5. — *n* - Cellula normale triangolare appartenente al nucleo de' VI paio.
_a_ - Cellula alterata del nucleo del VI, in seguito ad asportazione dei canali semicircolari.

Fig. 6. — *n* - Cellula normale di Purkinje del cervelletto.
_a_ - Cellula di Purkinje alterata, in seguito ad asportazione dei canali semicircolari.

Fig. 1

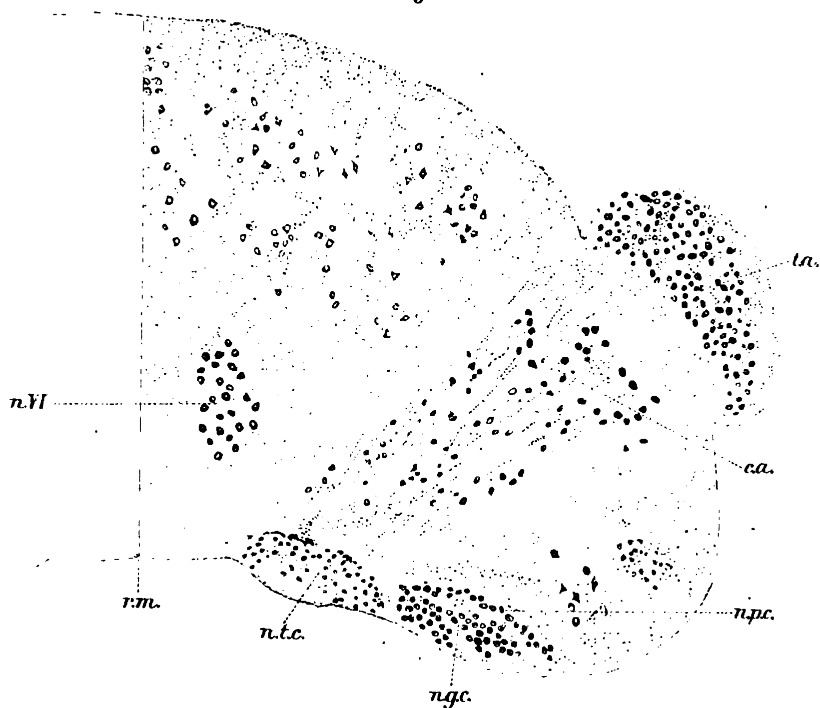


Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5

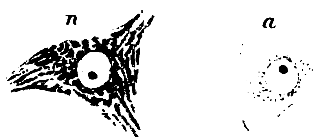


Fig. 6



ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 19.

Istituto di Patologia generale della R. Università di Torino,
diretto dal Prof. G. Bizzozero.

IMPORTANZA
DEI SALI DI CALCE NELLA RIPARAZIONE DELL'OSSO

Ricerche Sperimentali

del
Dott. **Angelo VALAN**

(Tav. X)

La questione di portare a riparazione artificialmente le perdite di sostanza dello scheletro interessò fin da epoche remote i cultori della medicina, però soltanto nel nostro secolo essa potè entrare definitivamente nel dominio della scienza in seguito ai tentativi iniziati a questo scopo e seguiti da successo nel campo clinico e sperimentale per opera di Philippe v. Walter*, Heine*, Flourens*, Klenke* (1810-1842), Ollier, Wolff (1) e Jakimowihsch (2) (1859-1881). L'indirizzo di queste prime ricerche mirava specialmente a stabilire se un pezzo d'osso completamente staccato dal resto dello scheletro e ripiantato nel sito d'origine o in un'altra perdita di sostanza ossea, vi si innestasse e conservasse la propria vitalità. — Spetta ad Ollier il merito di aver stabilito le condizioni fisiologiche per la riuscita dell'innesto osseo colle sue

NB. Dei risultati di questo lavoro venne data relazione alla R. Accademia Medica di Torino nella seduta del 13 gennaio 1899.

* Citati dal Buscarlet. Thèse de Paris, 1891.

ricerche sopra la rigenerazione dell'osso, iniziate fin dal 1859 e continuate con una lunga serie di osservazioni cliniche e sperimentali per oltre 30 anni.

Secondo Ollier (3), la vitalità del pezzo osseo innestato, come di ogni altro tessuto del corpo, dipende essenzialmente dalla nutrizione per mezzo dei vasi e dei liquidi speciali nel terreno d'innesto, variabili nelle varie specie di animali. Se si opera perciò il trapianto di un pezzo d'osso fra animali di specie diversa, la vitalità di questo va tanto più facilmente perduta, quanto meno affine è la nutrizione nel terreno d'innesto, cioè quanto più grande è la distanza nella scala zoologica fra le due specie animali adibite all'esperimento.

In base a tale teoria egli distingue gli innesti ossei in tre categorie: Autoplastici, nei quali il pezzo osseo vien preso e trapiantato sullo stesso individuo; omoplastici, in cui il pezzo da trapiantarsi è preso da un altro individuo, ma della medesima specie di quello su cui dev'essere innestato; eteroplastici, in cui il trapianto si stabilisce fra individui di specie diversa. Cogli innesti auto ed omoplastici il pezzo osseo trapiantato aumenta di spessore e di lunghezza, ciò che per lui ha un valore assoluto per la dimostrazione della sua ulteriore vitalità; negli eteroplastici cade in necrosi, si riassorbe e viene sostituito da nuovo osso, o soltanto incapsulato da connettivo, quando non venga eliminato per suppurazione.

Il Mossè (4) e l'Adamkiewicz (5) invece avrebbero conseguito risultati positivi riguardo alla vitalità dell'innesto, anche praticando il trapianto fra animali di specie diversa (fra cane e scimia, Mossè; fra cani e conigli, Adamkiewicz); risultati analoghi nel campo clinico furono pure riferiti, dallo Jaksch*, dal Mac Ewen*, dal Richard*, dal Poncet* e dal Wait*. Ulteriori ricerche sperimentali dello Schmitt (6), del Laurent (7) e del Barth (8), sostenute dall'indagine istologica dei reperti, confermarono però le idee di Ollier e posero fuori dubbio la questione, che l'innesto eteroplastico perde qualsiasi funzione attiva e diventa soltanto centro passivo di

* Citati dal Barth (*Ziegler's Beitr.*, vol. 17).

neoformazione ossea, che lo sostituisce in un periodo più o meno lontano.

All'auto ed omoplastica restava pertanto limitato il campo delle applicazioni coll'innesto di osso vivente.

L'omoplastica, malgrado gli splendidi successi ottenuti sull'uomo dal Poucet (9), dal Mac Ewen (10), dal Bramann (11) ed altri, non potè trovare facile diffusione, principalmente per la difficoltà di avere sotto mano il materiale d'innesto adatto; nè miglior fortuna sembrò avere l'autoplastica, sia perchè, come la prima, è di risultato molto incerto, sia perchè espone lo scheletro ad altre perdite di sostanza per ripararne una già esistente (Schmitt (6), Barth (8)). Inoltre le più recenti ricerche istologiche sull'innesto autoplastico (Barth (8), Möller (12), Valan (13)) stabilirono, che ben poca parte dell'osso ripiantato si conserva vivente, e come tale prende parte attiva e diretta alla riparazione della perdita di sostanza scheletrica; la maggior parte cade in necrosi e viene sostituita da nuovo osso.

La vitalità del pezzo osseo ripiantato è assicurata invece coi metodi a lembo osteo-cutaneo (Wagner (14), Sack (15), Schulten (16), Wolff (17), Israel (18)), ed osteo-periosteo (König (19), Müller (20), Bardeneuer (21), Crammer (22)), se non che l'applicazione di questi metodi non è possibile in ogni caso, nè si presta a tutte le esigenze.

Frattanto le osservazioni istologiche di Bidder (23) e Riedinger (24), ripetute poco dopo da Lanelongue e Vignal (25), da Penrose e Hopkius (26) e completate con una serie di ricerche sperimentali da Ochotin (27) nel Laboratorio di Virchow, avevano posto in chiaro, che l'osso morto innestato nel vivente desta intorno a sè un processo produttivo, che conduce al riassorbimento del materiale morto ed alla sua sostituzione con osso neoformato. Gli stessi fatti si verificano anche coll'innesto di bastoncini d'avorio, ma il lavorìo di riassorbimento e di sostituzione con osso vivente procede qui con straordinaria lentezza, spesso anzi si arresta completamente, permettendo che residui più o meno estesi di

siffatti bastoncini restino indefinitamente ed innocuamente incorporati nell'osso vivente.

Gli esperimenti e le ricerche sull'argomento si moltiplicarono in breve lasso di tempo. L'eteroplastica con materiale morto, come quella che, ovviandone gli inconvenienti, realizzava presso a poco tutti i vantaggi dell'innesto osseo vivente, prese il predominio sulle applicazioni dell'osteoplastica. Se non che, invece di allargare le vedute in proposito sulla guida delle osservazioni istologiche di Bidder e Riedinger, per l'utilizzazione dell'osso morto come materiale d'innesto, la questione si arrestò al fatto, che l'osso è molto tollerante della presenza dei corpi stranieri asettici da un lato, e dall'altro, che il tessuto osseo, in presenza di un corpo straniero asettico, reagisce colla formazione di nuovo osso. Sorse così un indirizzo curativo delle perdite di sostanza scheletrica, cui il Gluck (28) ha applicato lo specioso nome di *terapia dei corpi stranieri* (Fremdkörpertherapie).

In certi casi il materiale morto innestato doveva rimpiazzare, come tale definitivamente, la perdita di sostanza scheletrica e surrogarne fino ad un certo limite le funzioni. In questo senso da Rose e Krönlein venne proposto dapprima l'avorio, che, data la straordinaria lentezza con cui procede la sua scomparsa nel tessuto osseo vivente, poteva considerarsi come materiale non assorbibile.

Il Gluck (28) pretese di riformare con questo mezzo intere parti scheletriche, di ristabilire la continuità delle ossa con cilindri d'avorio introdotti nella cavità midollare di due monconi ossei corrispondenti, e con apparecchi di protesi più complicati adattare, sul vivente, delle vere giunture artificiali. Allo stesso scopo egli suggerisce come materiale d'innesto, l'alluminio, l'acciaio nichelato, il cautechuche indurito, il vetro, o qualunque altro materiale non assorbibile. Fillenbaum, Hinterstoisser, Fränckel proposero le lamine di celluloide *, per la chiusura delle perdite di sostanza del

* Vedi Giordano, « Trattato di Chirurgia », p. 375.

cranio; Pean (40) per le operazioni di rinoplastica ricorse a placche di platino pertuggiate.

Per la chiusura delle cavità ossee, ritenendosi essenziale il contatto esatto delle pareti ossee col materiale innestato, venne proposta la così detta piombatura con materiali che si modellassero, solidificandosi, a tutte le accidentalità di forma delle cavità stesse. Gluck propose un cemento asettico a base di colofonia; Trendelenburg** la biacca di piombo; Mayer (30), Heintze l'amalgama di rame; Martin (32) la guttaperca da protesi dentaria. L'irritazione plastica, determinata da questi corpi stranieri nell'osso vivente, conduce ad una neoformazione ossea, che tende ad incapsulare il materiale innestato (De Francisco (29). Altri finalmente (Dresmann (31), Martin (32), Stachow (33), proposero la piombatura delle cavità con gesso; però si trovò che, col tempo, questo viene assorbito e sostituito da nuovo osso.

Dall'altro lato, considerando il fatto, che il corpo straniero impiantato nell'osso eccita meccanicamente l'attività osteogenica del tessuto circostante, si cercò di avere nel materiale d'innesto qualità, che mentre garantivano siffatto eccitamento, favorissero il suo graduale assorbimento, man mano che nella perdita di sostanza scheletrica si andava sviluppando la neoformazione ossea.

Così dapprima Neuber*, Volkmann* e Schede* pensarono di utilizzare all'uopo il coagulo sanguigno, che si forma spontaneamente, lasciando liberamente fluire il sangue nelle cavità ossee residuate a necrotomie, o allo svuotamento di focolai infiammatorî e neoplastici. Hamilton* propose di sostituire al coagulo sanguigno le spugne asettiche. Gluck (28) suggerì i tamponi riassorbibili di catgut; Holsted* una sostanza a lunghe fibre, soffice e flessibilissima, ottenuta dalla sottomucosa dell'intestino di maiale. Duplei e Cazin (34), adoperando come materiale d'innesto, la spugna, la garza jo-

---

** Citato dal Dresmann (*Deutsch. med. Woch*, 1893).
* Citati dal Buscarlet. Thèse de Paris.

doformica, il cotone, la seta, il catgut, dimostrarono nei loro esperimenti doversi dare la preferenza ai due primi, come quelli che più facilmente vengono investiti ed infiltrati dal tessuto di granulazione, cedendo successivamente il posto alla neoformazione ossea, che ripara completamente la perdita di sostanza scheletrica. Nel 1889 il Sen (35) per primo, e dietro lui il Mackie (36), Kummel (37), Le Dentu (38), Buscarlet (39), Schmitt (6), Laurent (7) ed altri preconizzarono, come materiale d'innesto, l'osso decalcificato reso accuratamente asettico. Secondo questi autori esso si avvicina di più alle condizioni fisiologiche dell'innesto d'osso vivente: favorisce i processi di ossificazione, serve di sostegno temporaneo agli elementi osteogenici e dirige l'attività di questi per mezzo delle sue cavità e dei suoi canali nel campo della perdita di sostanza ossea. Realizza, in breve, tutte le condizioni favorevoli dell'innesto di osso morto, ma è più facilmente assorbibile e più facilmente viene sostituito con tessuto osseo di nuova formazione (Buscarlet (39)).

In tutte queste ricerche non si riconosce nell'innesto eteroplastico altra funzione che quella meccanica di presenza; e sia che si pretenda da esso la sostituzione definitiva della parte scheletrica, o che si conti sull'azione irritativa temporanea, determinata dallo stesso nei processi rigenerativi dei tessuti osteogeni, in tutti i materiali proposti non si considerano che i soli caratteri fisici favorevoli all'una, o all'altra applicazion osteoplastica.

Riguardo all'innesto eteroplastico con materiale stabile (non assorbibile) lo Schmitt (6) in uno studio clinico e sperimentale comparativo dei diversi metodi osteoplastici, dimostrò che la sostituzione dei difetti ossei per questo mezzo è in tanto possibile, in quanto non venga richiesta dal corpo straniero alcuna compartecipazione alla funzione della rispettiva parte scheletrica. Così in causa della pressione esercitata sulla parte corticale dell'osso dai chiodi d'avorio, o dagli altri apparecchi proposti dal Gluck per ristabilire la continuità delle parti scheletriche, si produce quasi inevitabilmente necrosi della

parete ossea corrispondente e si rende infine necessaria la rimozione dei materiali estranei innestati.

Inoltre, non è affatto dimostrato che un corpo straniero possa rimanere indefinitamente tollerato nello scheletro. Com'è stato tante volte dimostrato per i proiettili d'arma da fuoco conficcati nell'osso, esiste anche qui il pericolo che, anche a guarigione completa, magari dopo mesi ed anni, possano insorgere gravi complicazioni morbose; siano esse dovute ad un ripristino della virulenza di germi, che sono eventualmente penetrati con il corpo straniero e rimasti insieme a questo impunemente incapsulati, o al trasporto, per la via del circolo, di germi, che, accidentalmente penetrati nell'organismo, si soffermano nel sito dell'innesto, come in un *locus minoris resistentiae*. E però non sono rari i casi registrati nella letteratura (Pean (40), Bergman (41), Prewost (42)) nei quali il corpo straniero, dopo apparente innesto, venne espulso per suppurazioni protratte o dovette essere rimosso, talora anche coll'amputazione del membro che lo ricettava (Buscarlet (39), Barth (8)).

Siffatti inconvenienti sarebbero sicuramente ovviati con l'innesto di materiali riassorbibili. Se non che qui, per la riparazione delle perdite di sostanza ossea, si fa soltanto assegnamento sull'azione irritativa di presenza del corpo straniero nel terreno d'innesto, mentre è inammissibile che le attività plastiche di un tessuto, dietro una qualsiasi causa irritativa, possano estendersi oltre certi limiti, dando luogo a riproduzione costante e normale dello stesso tessuto.

Così noi vediamo che l'osso decalcificato, il quale come materiale d'innesto ha incontrato più favore, non dà risultati costanti anche nelle mani dei suoi più caldi sostenitori: spesso viene sostituito soltanto da tessuto fibroso; e ciò si verifica specialmente nelle perdite estese di sostanza ossea. Se ne volle rintracciare la spiegazione, ammettendo che in questi casi il riassorbimento della sostanza innestata avvenisse più rapidamente che l'ossificazione; e si suggeriva pertanto di non procedere alla completa decalcificazione (Buscarlett (39)) e

di lasciare anche un buon nucleo di osso duro, non decalcificato (Kummel (37)) nell'interno del materiale d'innesto, per assicurare il successo nei gravi difetti di sostanza dello scheletro. Cosicchè, senza volerlo, si sentiva il bisogno di rifare il cammino percorso, per riaccostarsi di nuovo all'originario innesto di osso morto, quale era stato raccomandato dalle prime osservazioni istologiche di Bidder e Riedinger.

Spetta però a Barth (8) il merito di aver ricondotto sopra un indirizzo razionale l'osteoplastica coll'innesto di materiale morto. Egli osservò, che con l'innesto di osso macerato si verifica costantemente la riparazione completa della perdita di sostanza con tessuto osseo di nuova formazione, mentre con l'innesto di osso decalcificato si ha, come risultato ordinario, il riassorbimento e la sostituzione di esso con solo tessuto connettivo.

Nel primo caso la sostituzione della nuova sostanza ossea a quella morta del pezzo innestato è preceduto soltanto in parte dagli ordinarî processi di riassorbimento; il tessuto osseo neoformato generalmente avviluppa ed infiltra fin dapprincipio il pezzo innestato, appone le sue trabeccole direttamente sulla sostanza di questo, e gradatamente vi si sostituisce senz'altro intermediario.

Egli ammette pertanto che, in questo meccanismo cosidetto di sostituzione diretta, l'osso di nuova formazione assimili i sali di calce dell'osso morto, e conclude esser necessaria la presenza di questi sali nel materiale d'innesto, perchè possano svolgersi le attività dei tessuti osteogenici. Nel 1896 a conferma di questa sua teoria pubblicò i risultati di esperienze cliniche e sperimentali, ch'egli ottenne coll'innesto di osso calcinato, preconizzando siffatto materiale come il più adatto per ottenere artificialmente la riparazione ossea completa della perdita di sostanza scheletrica.

Quest'ultimo lavoro non era a mia conoscenza, allorquando nelle mie ricerche sull'innesto dell'osso nel cranio, iniziate sotto la guida del mio amato maestro, il Prof. Bizzozero, nell'ottobre del 1896, aggiunsi fra gli altri risultati il reperto

comparativo, ottenuto sopra lo stesso animale d'esperimento, coll'innesto di osso calcinato e di osso decalcificato, e dimostrai la sostanziale differenza istologica nel processo riparativo, com'era stata appunto descritta dal Barth nel suo primo lavoro per l'osso decalcificato e l'osso macerato.

Continuando i miei studî sull'argomento e riflettendo che nell'osso calcinato, rispetto allo svolgersi dei processi osteogenici, insieme alla presenza dei sali di calce, trovansi combinati due altri fattori, la durezza e la porosità (fattori che prima delle ricerche del Barth erano anzi i soli considerati); mi proposi di stabilire sperimentalmente, se ed in quale proporzione vi concorressero.

In secondo luogo cercai di stabilire quale influenza eserciti, riguardo allo sviluppo del processo riparativo, la composizione chimica della cenere d'osso, e precisamente quanta parte spetti alla calce e quanta agli altri componenti chimici di essa.

Ho eseguito quasi tutte le mie esperienze sul cranio di cani e conigli, perchè nel cranio il campo della rigenerazione ossea spontanea è limitatissimo, e si possono quindi apprezzare i fenomeni provocati dall'innesto con perdite di sostanza e traumatismi lievi, assicurando meglio l'esito dell'operazione. Inoltre, per la natura delle ricerche dovendo attenermi all'esame comparativo dei risultati, ho cercato di ottenere sullo stesso animale due reperti, sia per confrontare e controllare il risultato positivo col negativo, sia per stabilire il rapporto fra due risultati positivi, senz'essere disturbato nelle deduzioni dalle varianti individuali dell'energia rigenerativa.

Per ciascuna sostanza d'innesto, adibita alle ricerche, si istituirono non meno di due esperienze, i cui risultati vennero raccolti a distanze di tempo diverse, rispetto alla data di operazione, comprese fra un limite minimo di 5 giorni ed uno massimo di 6 mesi. Col mezzo di una trefina di 8 mm. di diametro trapanavo gli animali in due regioni omologhe del cranio, introduceva nella breccia ossea il materiale d'innesto, sterilizzato col calore secco o colla lunga permanenza in liquidi antisettici, indi vi distendeva e suturava al di sopra il

pericranio, e chiudeva la ferita cutanea. In quasi tutte le esperienze le ferite guarirono per prima intenzione con decorso perfettamente asettico. — Dopo l'uccisione degli animali la parte, che conteneva il materiale innestato, veniva esportata insieme ad un tratto di qualche millimetro della parete cranica limitrofa, e quindi sottoposta agli opportuni trattamenti per l'esame microscopico. — Ciò premesso, vengo ora ad esporre riassuntivamente l'indirizzo speciale delle ricerche ed i loro risultati sommarî per la soluzione dei quesiti, che mi sono proposto dapprincipio, riservandone i dettagli al tabellario di protocollo, che fa sèguito alla presente dissertazione.

Per stabilire quale influenza esplichino, come fattori osteogenici nell'osso calcinato, la durezza e la porosità in confronto alla presenza dei sali di calce, ho ricorso all'innesto di carbone di *Coke*, materiale duro e poroso, ma che non contiene affatto sali di calce, preparando dallo stesso dei dischetti di diametro e spessore corrispondenti alla breccia di trapanazione. Sifatto materiale, dal punto di vista della funzione fisicodinamica dell'innesto eteroplastico, mi parve essere nelle migliori condizioni, per destare una conveniente irritazione plastica sul terreno d'impianto, per favorire l'infiltrazione dei tessuti osteogenici e per servire di sostegno colla sua solida impalcatura alle trabeccole ossee di nuova formazione.

Nei pezzi esportati (Esp. 10-15) il dischetto di carbone, esattamente addattato nel sito d'innesto, mostravasi solidamente connesso alle parti ossee circostanti, ricoperto dalla dura madre e dal periostio fittamente aderenti. Nei preparati ottenuti per usura di sostanza sulla pietra d'affilare, la massa innestata è avvolta e compenetrata in tutte le sue cavità soltanto da connettivo fibroso; la neoformazione ossea è limitata ai margini di trapanazione, su cui si adatta come uno strato continuo più o meno grosso (Fig. 1), ispessendoli nel lato corrispondente del periostio e della dura madre. Piccole propagini di questa zona ossea marginale si insinuano talora nelle limitrofe cavità del carbone (*); e queste, come lo strato osseo

(*) È un reperto affatto accidentale la presenza di sottili trabeccole

marginale da cui originano, a differenza di quanto osservasi nell'innesto di osso calcinato, non si pongono mai in rapporto immediato colla sostanza del carbone, ma vi sono sempre separate da uno strato connettivo.

Cosicchè, in complesso, il materiale innestato è avvolto ed infiltrato in tutte le sue cavità soltanto da connettivo fibroso e con propaggini di questo, che si diffondono nella porzione ossea circostante, rimane solidamente connesso al resto del cranio.

E però i tessuti osteogenici, in presenza di un materiale duro e poroso, non accrescono le loro attività plastiche, producendo osso nell'interno del corpo straniero.

In una seconda serie di esperienze ho riempito la breccia di trapanazione ora con cenere d'osso finamente polverizzata, ora con minutissima limatura d'osso macerato, nell'intento di avere un materiale, che in un sostrato molle, fornito dal coagulo sanguigno e dagli essudati fibrinosi formantisi nella ferita ossea, contenesse abbondantemente ed intimamente commiste piccolissime particelle di sostanza ossea inorganica, e realizzasse presso a poco la condizione di un materiale d'innesto, in cui dei supposti fattori osteogenici agisce soltanto la presenza dei sali inorganici dell'osso.

Il quadro istologico dei processi, che si svolgono in questo sostrato (Esp. 1-9), può essere schematicamente diviso in zone, corrispondenti ad altrettanti stadî di sviluppo del tessuto di granulazione che, originatosi dalla dura madre, dal periostio e dalle cavità diploiche dei margini di trapanazione, s'avanza e subisce gradatamente le varie fasi evolutive dalle parti periferiche alle centrali dell'area d'innesto.

Cosicchè procedendo dalle zone centrali, noi troviamo dapprima un tessuto embrionale con vasi sanguigni a pareti esilissime, con cellule in prevalenza rotonde, fibroblasti,

---

ossee disseminate nel connettivo epidurale (V. fig. I); ed è senza dubbio dovuta a briccioli di sostanza ossea, quivi caduti durante la trapanazione; dove infatti non si trascurò di lavare accuratamente la ferita, dopo l'estrazione del pezzo trapanato, tali neoformazioni d'osso non si osservano affatto.

leucociti mono e polinucleati, che infiltrano diffusamente i residui del coagulo sanguigno e si accumulano specialmente intorno ai briccioli sparsi di sostanza ossea. Nella zona più esterna prevalgono in questo tessuto le cellule fusate, e si stabilisce un attivissimo riassorbimento della massa polverulenta innestata. Vi si notano grosse cellule epitelioidi, dal nucleo vescicolare rotondo od ovale, con un nucleolo centrale ben distinto, strettamente applicate intorno alle varie particelle di sostanza innestata, come pure grossi elementi polinucleati che includono nella loro massa protoplasmatica uno o più briccioli di sostanza ossea, mentre i nuclei si raccolgono di preferenza alla periferia del corpo cellulare, disponendovisi spesso a mo' di corona. L'investimento di questi elementi attivi dell'assorbimento si accentua e tende a generalizzarsi su tutte le particelle disseminate di sostanza ossea, a misura che, procedendo verso la periferia, ci avviciniamo alla 3ª zona, dove il tessuto di granulazione assume una struttura connettivoide. — Quivi le particelle sono quasi tutte inglobate dalle cellule giganti, e vanno sempre più riducendosi in numero e dimensioni; affatto rare sono quelle abbandonate in mezzo al tessuto, che prende gradatamente la struttura di un connettivo più sviluppato. Gli elementi di questo si accumulano e si stratificano intorno a sì fatti briccioli liberi di sostanza, in forma di cellule dal protoplasma granuloso, dal grosso nucleo a contorno irregolare e fortemente tingibile, che s'impongono perciò morfologicamente come osteoblasti. Gli stessi osteoclasti, il cui numero va sempre più riducendosi colla graduale scomparsa delle particelle di sostanza innestata, presentano contemporaneamente analoghe modificazioni dei loro nuclei, che da vescicolari rotondi od ovali, simili affatto a quelli delle cellule epitelioidi, testè descritti, appariscono successivamente come masse intensamente e diffusamente colorabili e più o meno irregolari nei loro contorni; il che, secondo Barth farebbe credere, che sì fatti osteoclasti rappresentino qui non altro che uno stadio di transizione immediata degli osteoblasti (Barth).

Si passa così insensibilmente nella zona osteogena, dove le particelle di sostanza innestata fanno assolutamente difetto. La neoformazione ossea è limitata generalmente al margine cranico di trapanazione, che lo riveste e lo ispessisce per un tratto più o meno ristretto sul lato del periostio e della dura madre; affatto raramente vien dato di osservare in mezzo al connettivo qualche isoletta di tessuto osseo neoformato con strati periferici di osteoblasti, che contiene residui più o meno ridotti del materiale innestato.

La massa polverulenta viene adunque interamente riassorbita dagli elementi del tessuto di granulazione, che si svolge nell'area d'innesto, prima che questo abbia raggiunto quella fase del suo sviluppo, in cui possa esplicare le sue attività osteogeniche.

Pertanto nei preparati ottenuti in 90ª giornata dall'operazione, la perdita di sostanza cranica è riempita soltanto da connettivo, con fasci fibrosi longitudinali che ispessiscono la lamina durale e periostea nel tratto corrispondente, e con una zona intermedia fibrillare più o meno ricca di nuclei, che in certi punti accenna a diventare tessuto cellulo-adiposo areolare, e in cui rinvengonsi talora scarse isolette di tessuto osseo neoformato.

Siffatti nuclei ossei disseminati in mezzo al connettivo aumentano notevolmente per numero e dimensioni se come materiale d'innesto, in luogo della polvere finissima in discorso, adoperiamo dell'osso calcinato o macerato, grossolanamente triturato. In questo caso i processi di assorbimento attinenti alle prime fasi di sviluppo del tessuto, che si svolge nell'area di trapanazione, non trovano nella massa innestata, per il maggior volume delle singole particelle che la costituiscono, una superficie di azione così ampia come nella massa finamente polverizzata, e non inducono quindi la sollecita e radicale scomparsa in primo tempo di tutti i piccoli frammenti del materiale d'innesto. Residuano di quest'ultimo porzioni più o meno ridotte, che divengono, nel periodo osteogenico del processo di guarigione, centro formativo di nuove trabeccole ossee

e conducono così ad una proporzionata riparazione della perdita di sostanza cranica.

In fine ho istituito esperienze di confronto coll'innesto ora di cartilagine calcificata, ora di cartilagine libera di sali di calce, preparando all'uopo dei dischetti molto sottili rispettivamente dalla porzione centrale e subpericondrica della cartilagine costale di bue. Nei primi l'infiltrazione calcarea era quasi esclusivamente limitata intorno alle capsule cartilaginee, in forma di aloni abbastanza ben circoscritti, separati da tratti di sostanza fondamentale normale, mentre in quelli ottenuti dalla porzione subpericondrica la cartilagine era perfettamente priva di sali di calce. In ciascun dischetto, per facilitare l'infiltrazione agli elementi del tessuto di granulazione, venne praticato un conveniente numero di fori con uno spillo incandescente. All'asepsi del materiale così preparato si provvedeva tenendolo parecchi giorni, prima in soluzione di formalina al 5 $^0/_0$, poi in alcool a 80, infine lavandolo con acqua sterilizzata. A seconda dello spessore dell'osso da riparare, venivano innestati, sovrapposti l'uno all'altro, da 2 a 4 dischetti.

Per lo spessore quasi membranaceo dei singoli dischetti, la quantità di sali di calce, relativamente scarsa in ciascuno di essi, non conferiva valutabili differenze di consistenza fra le due sostanze cartilaginee adoperate per l'esperienza; si poteva quindi nell'esame comparativo dei risultati riferirne nei due casi le differenze alla sola presenza dei sali di calce, dovendosi ritenere identiche le altre condizioni: durezza, porosità, resistenza ai processi di assorbimento. D'altra parte, la distribuzione della sostanza calcarea in minutissimi blocchi nell'interno della cartilagine, presentava una certa analogia colle particelle di cenere ossea polverizzata, agglutinate dal coagulo nelle predescritte esperienze. La principale differenza nei due casi era data dalla diversa resistenza del mezzo, in cui erano contenuti i granuli calcarei, ai processi di assorbimento, resistenza maggiore cioè nella cartilagine che nel coagulo sanguigno, e ad essa quindi, come alla conseguente più lunga permanenza dei sali di calce nel tessuto

neoformato, dovevasi essenzialmente riferire la diversità dei reperti, che sarebbe risultata dal confronto delle due ricerche.

Negli interstizî fra l'uno e l'altro dischetto cartilagineo e attraverso i fori praticati in ognuno di essi, l'infiltrazione degli elementi del tessuto di granulazione si effettua rapidamente, e di qui si fa strada a poco a poco nell'interno della sostanza cartilaginea. Questa presentasi in seguito intersecata da spazi, sotto forma di fessure ramificate in vario senso e fra di loro anastomizzate, occupate dal tessuto di granulazione. Nei tratti limitrofi la sostanza cartilaginea assume un aspetto finamente striato o punteggiato, diviene torbida e granulosa in vicinanza immediata del margine di siffatti spazi e si trasforma insensibilmente nel contenuto chiaro di questi. Gradatamente il numero e lo spessore di siffatta scontinuità della cartilagine va aumentando, finchè questa si scinde in isolotti più o meno grandi, ravvolti da giovane connettivo fibrillare. Fin qui i processi si svolgono e decorrono in modo perfettamente analogo tanto nell'innesto con cartilagine priva di sali di calce, quanto in quello con cartilagine calcificata. Ulteriormente mentre nell'un caso l'infiltrazione connettiva e la contemporanea dissoluzione della sostanza cartilaginea continua nel modo indicato, fino alla totale scomparsa di quest' ultima; nell'altro caso subentra invece l'evoluzione osteogenica del connettivo, che circoscrive i residui di cartilagine calcificata (Fig. 2): si differenziano in esso strati osteoblastici e trabeccole ossee di nuova formazione, che avviluppano ed infiltrano i residui cartilaginei, sostituendoli direttamente. I processi di assorbimento degli avanzi cartilaginei decorrono parallelamente, anche in questo secondo periodo, tanto nella cartilagine priva di sali di calce quanto in quella calcificata; conducono però a sola neoformazione connettiva nella prima, mentre nella seconda dànno luogo a neoproduzione ossea, in forma di nuclei sparsi nel campo connettivo, per numero e dimensioni direttamente proporzionali alla quantità di sali di calce contenuti nella cartilagine innestata.

Da tutto questo noi possiamo dedurre le seguenti conclu-

sioni: L'irritazione meccanica, determinata in un terreno osteogenico dai corpi duri e porosi, non è sufficiente a provocare ed allargare oltre i limiti fisiologici le attività rigenerative del tessuto osseo.

È condizione essenziale per l'osteogenesi la presenza dei sali di calce nel terreno d'innesto, ma in un mezzo, nel quale o per lo stato di aggregazione molecolare di essi sali (osso calcinato) o per la natura della sostanza che li contiene (cartilagine calcificata), mentre è resa possibile l'infiltrazione ai tessuti osteogenici, venga sottratta agli agenti dell'assorbimento iniziale e risparmiata per i tardivi processi osteogenici una sufficiente quantità di sostanza calcarea.

Nell'osso calcinato la porosità e la durezza possono perciò concorrere soltanto come fattori secondari; nel senso che mentre la prima fornisce ai tessuti osteogeni un'ampia superficie di contatto con la sostanza inorganica dell'osso, l'altra, per la compatta aggregazione molecolare, si oppone al rapido assorbimento in primo tempo del materiale innestato.

Per stabilire quale importanza nello svolgersi dei processi osteogenici spetti alla calce, di fronte agli altri componenti chimici della cenere d'osso, e quale influenza in questo senso spieghino le varie combinazioni chimiche della calce stessa; ho ricorso all'innesto di materiali, in cui ora la calce, ora gli altri componenti della sostanza ossea inorganica rimanevano esclusi, come pure ho istituito ricerche di confronto fra la cenere d'osso ed altre sostanze calcaree, che in diverso grado da questa chimicamente differivano.

Ho eseguito, perciò, le mie esperienze col gesso rappreso, colla cenere d'osso, con una miscela di sali terrosi (fosfato di calce g. 8,60, carbonato di calce g. 0,90, fluoruro di calce g. 0,35, fosfato di magnesio g. 0,20) simile a quella che costituisce la sostanza ossea inorganica e con una miscela analoga, in cui però alla calce era sostituita la magnesia (fosfato di magnesia, g. 8,80, carbonato di magnesia g. 0,90, fluoruro di magnesia g. 0,35). Queste tre ultime sostanze polverulente impastate con agar e sottoposte ad alte temperature nella

stufa a calore a secco od anche nel crogiuolo, fornivano un mastice duro e compatto, simile al gesso rappreso. Coi diversi materiali, allo stato di pasta molle, venivano preparati tanti dischetti di spessore e diametro corrispondenti e con un numero di fori, attraverso la loro massa, esattamente eguale.

Coll'innesto dei dischetti, contenenti tutti i componenti chimici della sostanza ossea inorganica tranne la calce, (Esp. 22 e 24) ha luogo il riassorbimento della massa innestata e la sua completa sostituzione con solo tessuto connettivo, viceversa coi dischetti di gesso (Esp. 23 e 25), ossia la calce in una combinazione affatto diversa rispetto ai sali di calce dell'osso, si sviluppa una neoformazione ossea, che ricolma più o meno completamente la perdita di sostanza cranica. E però la calce è, fra tutti i componenti ordinari dell'osso, il più importante per la riproduzione del tessuto osseo nell'area d'innesto.

Nei reperti paralleli ottenuti coll'innesto di dischi preparati con cenere d'osso, colla miscela artificiale di sali di calce e col gesso si notano differenze nell'attività, nella durata e nella stabilità dei processi osteogenici (Esp. 26-40).

I migliori risultati si ottengono dal mastice preparato con cenere d'osso: Il tessuto di granulazione, proveniente dagli elementi osteogenici che attorniano l'area d'innesto, avviluppa i singoli dischetti sovrapposti e attraverso i fori praticati in ognuno di essi s'insinua nell'interno della massa di questi e vi si diffonde con propaggini, che si ramificano e si anastomizzano in vario modo fra di loro. Ben presto si differenziano in questo tessuto, che assume gradatamente il tipo di connettivo fibrillare, strati osteoblastici e giovani trabeccole ossee, che si appongono direttamente sulla sostanza innestata.

A poco a poco questa apparisce segmentata in blocchi più o meno grossi, circondati da strati ossei di nuova formazione; lo spessore di questi ultimi aumenta gradatamente, mentre proporzionatamente si riducono gli ammassi interposti di sostanza innestata fino a scomparire del tutto, direttamente sostituiti da tessuto osseo neoformato.

L'accrescimento dell'osso di nuova formazione alle spese della sostanza innestata avviene qui, oltre che per apposizione di nuovi strati ossei periferici a mezzo degli osteoblasti, anche per aumento interstiziale della sostanza ossea neoformata (Marchand (43)), aumento che si lascia riconoscere specialmente per il progressivo distanziamento dei singoli corpuscoli ossei dagli strati più recenti a quelli di più antica formazione. Per siffatto accrescimento interstiziale la neoformazione ossea si espande direttamente nel territorio del materiale d'innesto, a misura che i sali di calce in questo contenuti, attraverso i canalicoli plasmatici di quella, vengono assorbiti ed uniformemente distribuiti in mezzo alle fibrille ossee di nuova formazione.

Il processo di ossificazione s'inizia in vicinanza dei margini di trapanazione fra il 10° e il 15° giorno dall'operazione, e si presenta prima nel tessuto epidurale, poi nella zona corrispondente alla diploe, infine nello strato subperiosteo: fra il 30° e il 40° giorno esso è diffuso su tutta l'area d'innesto. Dopo 6 mesi la massa innestata è quasi totalmente scomparsa, se ne rinvengono appena scarsi residui in vicinanza immediata del pericranio; la breccia di trapanazione è ricolmata da osso neoformato, differenziabile soltanto per le sue cavità più ampie e più numerose del normale.

Reperti analoghi si ottengono coll'innesto dei dischetti costituiti dalla menzionata miscela artificiale di sali di calce (Fig. IIIª), ma il processo osteogenico vi si inizia e decorre molto più lentamente; la sostituzione della massa d'innesto con osso neoformato, anche negli animali giovani, non si completa che in periodi di tempo notevolmente lunghi. Inoltre il processo di ossificazione non si verifica che nei cani giovani e adulti, nei cani vecchi e in tutti i conigli, qualunque sia la loro età, manca affatto od è scarsissimo, la massa innestata viene per lo più lentamente riassorbita e sostituita, od incapsulata in blocchi più o meno grossi soltanto da connettivo fibroso.

Siffatte differenze nell'attività e stabilità della riproduzione

ossea si accentuano coll'innesto dei dischetti di gesso. È sopratutto qui rimarchevole, nel processo riparativo, il ritardo nell'iniziarsi della fase di ossificazione e il conseguente prolungamento di quella di assorbimento della massa innestata.

Rimangono infine di quest'ultima soltanto scarsi blocchi disseminati nel giovane connettivo sviluppatosi nell'area d'innesto, ciascuno dei quali diviene centro produttivo di sostanza ossea periferica, che gradatamente li sostituisce.

La breccia di trapanazione riesce pertanto notevolmente ristretta, ma non completamente riparata con nuovo osso, nella parte centrale rimane costantemente un'area più o meno estesa, molto sottile, il più spesso membranacea, che racchiude soltanto nuclei di sostanza ossea in mezzo a connettivo fibroso.

Torna qui pure in acconcio di accennare ad alcune notevoli differenze nel quadro istologico del processo di guarigione, che si osservano, quando l'innesto dei tre diversi materiali venga fatto nelle piccole perdite di sostanza delle ossa lunghe, suscettibili di spontanea riparazione. Col mezzo della stessa corona di trapano, che mi servì per le esperienze sul cranio, ho prodotto breccie simili sulla parete interna della tibia di alcuni animali; e ne ho riempite alcune con dischetti di gesso, altre con dischetti della solita miscela artificiale di sali di calce, altre infine con dischetti di cenere d'osso. Laddove venne praticato l'innesto dei dischetti di cenere d'osso, il processo decorre nel modo già descritto: infiltrazione connettiva, ossificazione e diretta sostituzione della massa innestata con osso di nuova formazione. All'incontro nell'innesto colla miscela artificiale di sali di calce e col gesso, in mezzo al giovane connettivo che si sviluppa al disotto del periostio, tanto in corrispondenza dell'area di trapanazione quanto nelle parti limitrofe si differenziano chiazze più o meno estese di tessuto cartilagineo, che divengono a loro volta punto di partenza del processo osteogenico. Giovani trabeccole ossee si sviluppano alla periferia e nell'interno di siffatte chiazze cartilaginee, e a poco a poco loro si sostituiscono. Uno strato continuo di osso neoformato si protende così su tutta la superficie subperiostea dell'area d'innesto e riveste i margini ossei di trapanazione. Il materiale innestato frattanto in nessun punto trovasi in rapporto diretto colla neoformazione ossea periferica; tra l'uno e l'altro si interpone costantemente un gio-

vane tessuto di granulazione, i cui elementi provvedono all'assorbimento di tale materiale, a misura che l'osso di nuova formazione, crescendo per apposizione di nuovi strati ossei periferici, occupa gradatamente l'area dell'innesto. L'osso calcinato adunque viene anche qui utilizzato dalla neoformazione ossea, che si sviluppa nell'area d'innesto e da essa viene direttamente sostituito. Il gesso e la miscela artificiale dei sali di calce, rispetto all'osso calcinato, in ragione appunto della loro differenza chimica con la sostanza ossea inorganica, sono materiali più difficilmente utilizzabili dagli elementi osteogeni per la fabbricazione del nuovo osso; e perciò nell'innesto di queste due sostanze si verifica, come già vedemmo precedentemente, un relativo ritardo nell'esordire del processo di ossificazione. A sì fatto ritardo corrisponde nel caso qui considerato lo sviluppo di cartilagine, che intercede tra la fase connettiva e quella osteogenica del processo riparativo. La cartilagine per le sue attività biologiche di attrazione dei sali di calce del circolo (Grandis e Mainini (44)) costituisce in seguito il vero sostrato fisiologico al processo osteogenico riparativo, mentre la sostanza innestata perde qualsiasi importanza e come massa inerte viene gradualmente distrutta dagli elementi del tessuto di granulazione.

Da quanto ho esposto, deduco le seguenti conclusioni:

L'osteoplastica con materiale vivente trova utili e sicure applicazioni soltanto coi metodi a lembo osteocutaneo ed osteoperiosteo.

L'osteoplastica con materiale morto ha il precipuo vantaggio, di mettere in ogni caso a disposizione dell'operatore la sostanza conveniente per l'innesto, e soddisfa quindi a maggior numero di esigenze chirurgiche.

I corpi stranieri non assorbibili, innestati nell'osso vivente, non possono addattarsi ad alcuna compartecipazione funzionale della rispettiva parte scheletrica, ed espongono a pericolosi insuccessi immediati e lontani, praticamente dimostrati, che non si verificano con l'innesto di materiali assorbibili.

L'indicazione di portare a riparazione la perdita di sostanza ossea con osso normale, fra tutti i materiali assorbibili, viene maggiormente garantita dall'innesto di osso integro e meglio ancora di osso calcinato.

Il meccanismo d'azione di questi materiali nel terreno osteo-

geno si fonda essenzialmente sulla loro composizione chimica, ossia in un processo istochimico di utilizzazione della sostanza ossea inorganica per la riproduzione del nuovo osso; mentre non esplicano alcuna influenza diretta, sulle attività rigenerative del tessuto osseo, i soli caratteri fisici di questi materiali, durezza e porosità.

Fra tutti i componenti chimici della cenere d'osso, è assolutamente necessaria la presenza della calce nel sostrato, in cui devono svolgersi i processi riparativi del tessuto osseo; però è tanto più rapida, costante e completa la riparazione di questo, quanto più la composizione chimica del materiale calcareo innestato si avvicina a quella della sostanza ossea inorganica.

I sali di calce innestati allo stato di polvere fina vengono assorbiti, prima che si esplichino le attività osteogeniche nel tessuto che infiltra diffusamente la massa innestata. È quindi necessario, che le particelle del materiale inorganico innestato siano tenute assieme (mastice — cartilagine calcificata) da una sostanza, la quale mentre permette l'infiltrazione dei tessuti osteogenici, rallenti il riassorbimento delle particelle calcaree, e a questo modo le risparmi per i successivi processi di ossificazione.

Nell'osso calcinato la compagine molecolare abbastanza salda, per opporsi ai rapidi processi di assorbimento iniziale, la struttura eminentemente spongiosa, per fornire un'ampia superficie di azione ai processi osteogenici, e la natura della sostanza, chimicamente la più adatta e di pronta assimilazione per la neoformazione ossea in via di sviluppo, realizzano le condizioni idealmente più favorevoli per gli scopi che si propone l'osteoplastica con l'innesto di materiale morto.

Numero progress. delle Esperienze	Durata delle Esperienze	Animali di Esperimento	Operazione e Materiale d'innesto	Reperti
1	5 giorni	Coniglio	Trapanazione nella regione parietale destra — innesto cenere d'osso finamente polverizzata nella breccia di trapanazione.	Al disotto del pericranio leggermente sollevato dalla superficie cranica si protende sull'area d'innesto uno straterello di coaguli sanguigni, delimitandone abbastanza regolarmente il confine corrispondente. La dura madre soffusa di sangue è lievemente sospinta verso la cavità cranica. Le particelle di sostanza ossea inorganica, impigliate nello spessore di coaguli sanguigni, giacciono gradatamente più stipate dalla periferia al centro dell'area d'innesto, riunite in piccoli gruppi o disposte isolatamente. Abbondante proliferazione degli elementi contenuti nelle cavità diploiche dei margini di trapanazione, sotto forma di giovane tessuto di granulazione. Mitosi nel connettivo epidurale e subperiosteo. Infiltrazione di leucociti mono e polinucleati nelle parti periferiche dell'area d'innesto.
2	15 giorni	Coniglio	Trapan. nella reg. parietale destra. Innesti di polvere ossea finissima.	Invasione del tessuto di granulazione nelle zone esterne dell'area d'innesto, ed attivo assorbimento delle particelle di sostanza ossea per mezzo di cellule epitelioidi e giganti. Neoformazione ossea sui margini di trapanazione e sulla superficie durale dell'osso limitrofo.
3	15 giorni	Lo stesso Coniglio dell'Esp. 2	Trapan. nella reg. parietale sinistra. Innesto d'osso grossolanamente triturato.	Infiltrazione ed assorbimento dei piccoli frammenti nella parte est. dell'area d'innesto. Deposizione d'osso nuovo sui margini di trapanazione (necrotici). In mezzo al proliferato connettivo epidurale, in vicinanza del margine di trapanazione, si rinvengono briccioli di sostanza ossea circondati da osteoblasti; in alcuni vi è differenziato un sottile lembo [illegible]

			verizzata.	cellule giganti, e diventano sempre più scarse nelle zone periferiche, le quali sono occupate da giovane connettivo. Neoformazione ossea limitata ai margini di trapanazione.
5	30 giorni	Lo stesso cane	Trapan. nella reg. parietale sinistra. Innesto di osso calcinato grossolanamente triturato.	Nelle zone centrali, attivo assorbimento dei briccioli di sostanza per cellule epitelioidi e giganti; nelle periferiche è in grande prevalenza il processo di neoformazione ossea intorno ai piccoli frammenti di osso calcinato, sotto forma di isole e di reti trabecolari di osso neoformato, che includono residui più o meno ridotti degli stessi frammenti.
6	100 giorni	Cane giovane	Trapan. nella reg. parietale destra. Innesto cenere d'osso finamente polverizzata.	L'area d'innesto è riempita da connettivo fibroso, a fasci longitudinali nella zona durale e subperiostea, fibrillare e ricca di nuclei nella zona intermedia, dove rinvengonsi scarsi avanzi della sostanza innestata e talora qualche nucleo di osso neoformato con briccioli centrali di osso calcinato.
7	100 giorni	Lo stesso cane	Trapan. nella reg. parietale sinistra. Innesto di osso calcinato grossolanamente triturato.	La neoformazione ossea dai margini di trapanazione si protende come un cercine triangolare, che termina coll'apice più o meno acuminato verso le zone centrali dell'area d'innesto; ivi si rinvengono sparsi in mezzo al connettivo soltanto nuclei ossei di varie dimensioni, mentre nei segmenti più esterni la continuità ossea della breccia di trapanazione è ristabilita da lamelle ossee più o meno sottili. In quest'ultima, come negli accennati isolotti ossei centrali, esistono numerosi residui di sostanza ossea calcinata.
8	130 giorni	Cane	Trapan. nella reg. parieto-temporale destra. Innesto polvere d'osso finissima.	L'area di trapanazione appare come una depressione della superficie esterna, rotonda, trasparente, membranacea, di diametro presso a poco corrispondente a quello della corona di trapano che l'ha prodotta. Reperto istologico come nell'Esperienza VI.
9	130 giorni	Lo stesso cane	Trapan. nella reg. parieto-temporale sinistra. Innesto di osso grossolanamente triturato.	L'area di trapanazione è notevolmente ristretta, si presenta come una foveola della parete esterna del cranio, trasparente nella parte centrale, in parte ossea, in parte membranosa. Reperto istologico simile all'Esp. VII.

NB. — I preparati vennero fissati in liquido di Zenker, decalcificati in soluzione idroalcoolica di acido nitrico e floroglucina, inclusi in celloidina; le sezioni colorate con carmino alluminoso o con ematossilina ed eosina.

Numero progress. delle Esperienze	Durata delle Esperienze	Animali di Esperimento	Operazione e Materiale d'innesto	Reperti
10	60 giorni	Cane giovane	Trapan. nella reg. parietale sinistra. Innesto di un dischetto di *carbone coke*.	Neoformazione ossea limitata ai margini di trapanazione. Il carbone è incapsulato ed infiltrato soltanto da connettivo. *
11	60 giorni	Lo stesso cane	Trapan. nella reg. parietale destra. Innesto di un disco di osso calcinato (lo stesso disco di trapanazione).	Neoformazione ossea alla periferia e in quasi tutte le cavità della sostanza innestata.
12	90 giorni	Cane giovane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto disco d'osso calcinato (dalla sost. spongiosa di un epifisi).	La massa innestata è ridotta a blocchi più o meno grossi avviluppati ed infiltrati da osso neoformato.
13	90 giorni	Lo stesso cane	Trapan. nella reg. parietale sinistra. Innesto disco di carbone di coke.	Reperto simile all'Esp. 11ª. Piccole lamelle ossee nello spessore della dura madre (V. Fig. 1). *
14	150 giorni	Cane	Trapan. nella reg. temp. parietale sinistra. Innesto disco di carbone coke.	La neoformazione ossea marginale invia qualche piccola propagine nelle limitrofe cavità del carbone. Inviluppo ed infiltrazione connettiva in tutta la massa innestata. *
15	150 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. temp. parietale destra. Innesto disco osso spongioso calcinato.	La breccia di trapanazione è completamente riparata con osso di nuova formazione. Scarsi residui subperiostei della massa d'innesto.
16	30 giorni	Coniglio giovane	Trap. reg. parietale destra. Innesto 2 dischetti cartilag. costale priva sali di calce, conservata per 4 giorni in formalina al 5 % e in alcool a 80.	La cartilagine è avviluppata da giovane connettivo fibrillare, presenta scontinuità in forma di spazi e fessure fra loro anastomizzate, riempite dallo stesso connettivo; nelle parti limitrofe a siffatte lacune si osservano alterazioni della sostanza cartilaginea analoghe al rammollimento mucoso della cartilagine. Neoformaz. ossea limitata ai margini di

			calcificata costale. Conservata come sopra.	gini di trapanazione, e in prossimità di questi incipiente evoluzione osteogenica del connettivo che inviluppa residui cartilaginei calcificati.
18	110 giorni	Cane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto di 4 dischetti sovrapposti cartilag. costale priva di sali di calce.	La sostanza innestata è ridotta a blocchi di varie dimensioni circondati da connettivo ricco di nuclei. La sostanza cartilaginea dei singoli blocchi presenta scontinuità molteplici riempite da connettivo fibrillare, ora come fessure simili alle su descritte, ora come lacune rotondeggianti separate da trabecole più o meno spesse, per cui essa assume aspetto reticolato.
19	110 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto di 4 dischetti sovrapposti di cartilagine calcificata.	Residuano blocchi cartilaginei di varie dimensioni in mezzo a giovane connettivo. Sono circondati ed infiltrati direttamente da strati ossei di nuova formazione, il cui sviluppo in ciascun blocco sembra essere in rapporto colla presenza di punti più o meno numerosi, circoscritti per lo più intorno alle capsule cartilaginee, che spiccano sul resto della sost. fondamentale cartilaginea per un' intensa colorazione azzurra. In quegli ammassi cartilaginei dove sono scarsi o mancano sifatti punti azzurri manca altresì la neoformazione ossea (Fig. 2).
20	150 giorni	Cane	Trapan. reg. temporo-parietale sinistra. Innesto cartilag. priva di sali di calce. 3 dischetti sovrapposti.	Area di trapanazione membranosa. Neoformazione ossea limitata al margine cranico di trapanazione. Residui scarsi di cartilagine incapsulati da connettivo.
21	150 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. temporo-parietale destra. Innesto cartilagine calcificata. 3 dischetti sovrapposti.	Neoformazione ossea che ispessisce notevolmente il margine cranico di trapanazione e riduce circa a metà la perdita di sostanza; nuclei ossei in mezzo a connettivo, alcuni con residui centrali cartilaginei.

* Ciascun pezzo contenente l'innesto di carbone di coke, dopo la fissazione in alcool, venne diviso in 6 lamelle comprendenti altrettanti segmenti verticali dell'area d'innesto, insieme ad un tratto di qualche millimetro della porzione cranica limitrofa. Con ciascuna lamella, inclusa in balsamo duro, venne allestito, per usura di sostanza sulla pietra d'affilare, un preparato microscopico.

Numero progress. delle Esperienze	Durata delle Esperienze	Animali di Esperimento	Operazione e Materiale d'innesto	Reperti
22	23 giorni	Cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto *mastice sali di magnesio*, 3 dischetti sovrapposti.	Massa d'innesto sepimentata ed avviluppata da giovane connettivo fibrillare. Assorbimento a mezzo di leucociti, cellule epitelioidi e giganti. Neoformazione ossea incipiente sul margine cranico di trapanazione.
23	23 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto 3 dischetti di *gesso rappreso*.	Reperto identico al precedente.
24	150 giorni	Cane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto mastice sali di magnesia. 3 dischetti sovrapposti.	La perdita di sostanza è ricolmata soltanto da connettivo fibroso. Qualche blocco di sostanza incapsulato, o in via di assorbimento. Margine cranico di trapanazione ispessito e rivestito da sottile lembo di osso neoformato.
25	150 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti gesso rappreso.	Foveola nella superficie esterna; ristretta area centrale membranosa. Continuità ossea in gran parte ristabilita per lamine ossee periferiche più o meno sottili, al centro nuclei ossei sparsi nel connettivo, alcuni con residui centrali della massa d'innesto.
26	16 giorni	Cane giovane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto 3 dischetti sovrapposti del mastice: Miscela artificiale dei sali di calce.	Infiltrazione connettiva. Neoformazione ossea sul margine cranico di trapanazione. Appena accennata l'evoluzione osteogenica nelle porzioni periferiche della massa d'innesto, che cadono in simultaneo rapporto di vicinanza colla dura madre e col margine osseo di trapanazione.
27	16 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti sovrapposti del mastice di cenere d'osso.	Connettivo fibrillare negli interstizi fra i singoli dischetti e nei fori praticati in ciascuno di essi; di qui propagini e sepimenti più o meno ramificati nella massa innestata,

			scela artificiale di sali di calce.	dono negli interstizi e nello spessore dei dischetti innestati. Nelle zone centrali e subperiostee dell'area d'innesto l'evoluzione osteogenica del tessuto di granulazione è appena iniziata.
29	100 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti sovrapposti mastice cenere d'osso.	Neoformazione ossea sviluppata in tutta l'area d'innesto. La massa innestata è frazionata in blocchi avvolti e ricongiunti fra loro da osso neoformato. Lo sviluppo di questo colla conseguente riduzione di quelli si accentua dalle zone subperiostee alle epidurali.
30	180 giorni	Cane giovane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto mastice miscela sali di calce. 3 dischetti.	Neoformazione ossea sviluppata nella zona diploica ed epidurale, più scarsa nella subperiostea. Al disotto del periostio e nelle parti centrali dell'area d'innesto residuano grossi blocchi di sostanza innestata, su cui si stratifica l'osso neoformato.
31	180 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto mastice cenere d'osso, 3 dischetti.	L'area d'innesto è occupata interamente da osso neoformato; sussistono scarsi residui della massa innestata nelle zone subperiostee.
32	120 giorni	Coniglio	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto mastice: Miscela sali di calce 1 dischetto.	La massa d'innesto è frazionata in blocchi più o meno cospicui, incapsulati da connettivo, o in via di assorbimento a mezzo dei soliti elementi. Neoformazione ossea sul margine cranico di trapanazione; affatto mancante nell'area d'innesto.
33	120 giorni	Lo stesso coniglio	Trapan. reg. parietale destra. Innesto mastice cenere d'osso, 1 dischetto.	Neoformazione ossea diffusa nella zona diploica ed epidurale dell'area d'innesto, in forma di trabecole avvolgenti ed infiltranti ammassi più o meno grossi di sostanza innestata.
34	160 giorni	Coniglio giovane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto mastice miscela sali di calce, 2 dischetti sottili sovrapposti.	Reperto identico all'Esperienza 32.

Numero progress. delle Esperienze	Durata delle Esperienze	Animali di Esperimento	Operazione e Materiale d'innesto	Reperti
35	180 giorni	Cane vecchio	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto 3 dischetti mastice cenere d'osso.	La massa innestata è frammentata in grossi blocchi avvolti ed infiltrati per lo più da trabecole ossee di nuova formazione.
36	180 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti mastice miscela sali di calce.	Reperto simile all'Esperienza 32.
37	80 giorni	Cane giovane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti di *gesso rappreso.*	Neoformazione ossea sviluppata nei segmenti periferici dell'area d'innesto formante un sistema continuo di trabecole ossee fra loro anastomizzate: nei segmenti centrali è in grande prevalenza la neoformazione connettiva. La sostanza innestata è ridotta ad ammassi intercalati nel sistema trabecolare o sparse nel campo connettivo avviluppate per lo più da straterelli ossei di nuova formazione. Generalmente la sostanza ossea neoformata è in diretto rapporto coi residui del gesso innestato, si possono anzi in qualche punto sorprendere frammenti di cristalli aghiformi nell'interno della sostanza ossea, come nelle stesse cellule degli strati ossei più periferici; ma talora si rinvengono anche avanzi più o meno cospicui di gesso nelle cavità limitate dalle trabecole ossee neoformate, i quali soggiacciono agli ordinarî processi di assorbimento.
38	80 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto 3 dischetti mastice miscela sali di [illegible]	Neoformazione ossea: diffusa nella zona diploica ed epidurale dell'area d'innesto, avviluppante blocchi più o meno cospicui [illegible]

				tinuità ossea è ristabilita anche nelle parti centrali dell'area d'innesto, ma per mezzo di lamelle ossee esilissime. Scarsi residui della massa innestata si rinvengono incapsulati da connettivo nella zona subperiostea, come pure in seno all'osso neoformato.
40	180 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto 3 dischi miscela di sali di calce.	L'area d'innesto non riesce affatto appariscente nella superficie esterna, è indicata soltanto da una lieve intumescenza discoide, biancastra nella superficie interna del cranio. Neoformazione ossea epidurale e subperiostea molto sviluppata; grossi residui della massa d'innesto nella zona intermedia avvolti ed infiltrati da osso neoformato.

Numero progress. delle Esperienze	Durata delle Esperienze	Animali di Esperimento	Operazione e Materiale d'innesto	Reperti
35	180 giorni	Cane vecchio	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto 3 dischetti mastice cenere d'osso.	La massa innestata è frammentata in grossi blocchi avvolti ed infiltrati per lo più da trabecole ossee di nuova formazione.
36	180 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti mastice miscela sali di calce.	Reperto simile all'Esperienza 32.
37	80 giorni	Cane giovane	Trapan. reg. parietale destra. Innesto 3 dischetti di *gesso rappreso.*	Neoformazione ossea sviluppata nei segmenti periferici dell'area d'innesto formante un sistema continuo di trabecole ossee fra loro anastomizzate: nei segmenti centrali è in grande prevalenza la neoformazione connettiva. La sostanza innestata è ridotta ad ammassi intercalati nel sistema trabecolare o sparse nel campo connettivo avviluppate per lo più da straterelli ossei di nuova formazione. Generalmente la sostanza ossea neoformata è in diretto rapporto coi residui del gesso innestato, si possono anzi in qualche punto sorprendere frammenti di cristalli aghiformi nell'interno della sostanza ossea, come nelle stesse cellule degli strati ossei più periferici; ma talora si rinvengono anche avanzi più o meno cospicui di gesso nelle cavità limitate dalle trabecole ossee neoformate, i quali soggiacciono agli ordinarî processi di assorbimento.
38	80 giorni	Lo stesso cane	Trapan. reg. parietale sinistra. Innesto	Neoformazione ossea: diffusa nella zona diploica ed epidurale

BIBLIOGRAFIA

1. Wolff, *Langenbeck's Archiv*, vol. 4°.
2. Jakimowitsch, *Deut. Zeit. f. klin. Chirurgie*, vol. 15, 1881.
3. Ollier, *Verhandl. des internat. Congr.*, vol. 3°, Berl. 1891.
4. Mossè. *Gaz. hebd. de méd. et de chir.*, 1888, n. 4.
5. Adamkiewicz, *Wiener med. Blätter*, 1889.
6. Schmitt, *Langenbeck's Arch.*, vol. 45.
7. Laurent, Thèse de Bruxelles, 1893.
8. Barth, *Ziegler's Beiträge*, vol. 17. — *Berl. klin. Woch.*, 1896.
9. Poucet, *Congr. franc. de Chir.*, 1887.
10. Mac-Ewen, *Revue de Chir.*, 1882, vol. 2°.
11. Bramann, *Verhandl. der XXIII Congr. der deutsch. Ges. f. Chir.*, 1894.
12. Möller, *Inaug. Diss.*, Halle, 1895.
13. Valan, *Arch. per le scienze med.*, vol. XXII.
14. Wagner, *Centralbl. f. Chir.*, 1889.
15. Sack, *Inaug. Diss.*, Würzburg, 1892.
16. Schulten, *Langenbeck's Arch.*, vol. 53.
17. Wolff, *Berl. klin. Wochensch.*, 1894.
18. Israel, *Deutsch. med. Woch.*, 1893.
19. König, *Centralbl. f. Chir.*, 1890.
20. Müller, *Centralbl. f. Chir.*, 1890.
21. Bardeneuer, *Langenbeck's Arch.*, vol. 53.
22. Crammer, *Langenbeck's Arch.*, vol. 53.
23. Bidder, *Langenbeck's Arch.* (1878), vol. 18.
24. Riedinger, *Langenbeck's Arch.*, vol. 26.
25. Lanelongue e Wignal, *Bull. de la Soc. de Chir.*, 1882.
26. Penrose e Hopkius, *Journal of Americ. Ass. Chicago*, 1890.
27. Ochotin, *Virchow's Archiv*, vol. 124.
28. Gluck, *Arch. f. Kinderheilkunde*, vol. 16. — *Centr. f. Chir.*, 1890.
29. De Francisco, *Morgagni*, Novembre 1898.
30. Mayer, *Deutsch. med. Woch.*, 1893.
31. Dresmann, *Deutsch. med. Woch.*, 1893.
32. Martin, *Centralbl. f. Chir.*, 1894.
33. Stachow, *Beiträge z. klin. Chir. v. Burns*, vol. 12.
34. Duplei e Cazin, *Arch. gén. de Méd.*, 1892.
35. Sen, *Amer. Journ. of med. sc.*, 1889.
36. Mackie, *Med. News*, 1890.

37. Kümmel, *Deutsch. med. Woch.*, 1891.
38. Le Dentù, *Gaz. de Paris*, 1892.
39. Buscarlet, Thèse de Paris, 1891.
40. Pean, *Gaz. des hôp.*, 1894, n. 37.
41. Bergman, *Berl. klin. Woch.*, 1891, n. 34.
42. Prewost, Thèse de Paris, 1896.
43. Marchand, *Verhand. d. deutsch. path. Gesell.*, 1899.
44. Grandis e Mainini, *Arch. per le Scienze med.*, 1899, vol. XXIV, fasc. 1°.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 20.

Istituto di Anatomia patologica della R. Università di Torino.
(Prof. P. Foà).

SOPRA
DUE CASI DI SIRINGOMIELIA

PER IL

Dott. **Antonio CESARIS-DEMEL**
Professore di Anat. Patologica nella R. Università di Cagliari.

(Tav. XI e XII)

Col nome di « siringomielia » noi non possiamo oggi indicare una forma anatomica e clinica distinta. I casi descritti con questo nome, differiscono troppo nella loro sintomatologia e nella lesione anatomica reperibile nel midollo spinale, perchè noi possiamo farlo.

È più logico quindi intendere il nome di « siringomielia » in senso più largo, come quello che può indicare una complessa sindrome nervosa, sostenuta da lesioni anatomiche di varia natura del midollo spinale, che noi avviciniamo semplicemente tra di loro col semplice criterio grossolano della presenza in quello di una o molteplici cavità anomale, comunque siano originate.

A complicare il quadro clinico ed anatomico di queste affezioni concorrono eziandio le lesioni secondarie (lesioni trofiche dei muscoli, delle ossa, delle articolazioni, della cute, ecc.) che variano da caso a caso a seconda della estensione e della sede della lesione centrale, e la difficoltà non sempre superabile di poter differenziare la cavità siringomielitica da una semplice idromielia.

Infatti, se in alcuni casi iniziali la cavità del midollo spinale per la sua sede centrale, e per la struttura delle sue pareti (poche fibre di glia con rivestimento di epitelio ependimario) e per il contenuto liquido simile al liquido cefalorachidiano, si può con sicurezza ascrivere ad una semplice dilatazione del canale centrale e quindi ad un' idromielia, in altri, e sono la maggioranza, questi caratteri sono meno netti e precisi. Il rivestimento ependimario per la soverchia distensione del canale, viene per tratti anche estesi a mancare, e la glia, proliferando, ispessisce le pareti e dà a queste l'aspetto e il significato di una vera gliosi. Aggiungendo ancora la possibilità che la cavità idromielitica si renda per qualche tratto indipendente dal canale centrale (come si trova pure descritto in casi ritenuti di idromielia) si vede quanto la distinzione dei due processi, se può essere scolasticamente fatta e solo dimostrabile in pochi casi di affezioni congenite ed iniziali, non sia sempre fattibile praticamente, quando la lunga durata della affezione, abbia apportate delle lesioni secondarie che ne mascherino la natura. E per questo io mi associo pienamente alla conclusione di Dionisi (1), che riferendosi specialmente ai lavori recenti sull'argomento di Leyden (2), Chiari (3), Redlich (4), Straub (5), Hoffmann (6), Miura (7), Weigert (8), Brunner (9), Virchow (10), Lenossek (11), propone di abolire il nome di idromielia a sè, essendo più ragionevole il ritenere come cavità siringomielitiche tutte quelle che non abbiano un dimostrabile rapporto con speciali deformità congenite, come la spina bifida e l'idrocefalo.

Con questa restrizione nel concetto anatomico della idromielia non si esclude, anzi si viene implicitamente ad ammettere che altre anomalie di sviluppo, che non siano le due ricordate, possano avere una parte prima nella patogenesi della siringomielia. E questo modernamente è ammesso e varie sono le anomalie di sviluppo che si possono dimostrare in rapporto patogenetico con cavità anomale del midollo spinale. Già da tempo si sapeva per opera degli anatomici e specialmente di Joffroy (12), Brissaud (13), Dellemagne (14), che rara-

mente si può trovare nel midollo spinale un canale centrale il quale per la sua costante pervietà e per la struttura delle sue pareti possa ritenersi normale per tutta la sua lunghezza, tantochè la struttura assolutamente normale dovrebbe oggi considerarsi come una eccezione.

Così il canale centrale si trova facilmente per alcuni tratti occluso, non raramente presenta dei diverticoli o degli spostamenti o degli sdoppiamenti, e frequentemente si trovano o germi di ependima aberranti, o alterazioni nella disposizione dell'ependima di rivestimento. Queste anomalie sono di indubbia origine embrionale e possiamo rendercene ragione studiando il modo col quale nell'embrione il midollo spinale si viene mano mano formando, e si possono con tutta facilità riscontrare anche nel midollo spinale di neonati del resto perfettamente formati.

Nei casi dove esiste l'occlusione, questa è facilmente determinata da un aumento di elementi rotondeggianti periependimali, e da alcuni autori sono interpretati appunto come nidi di tessuto germinativo embrionale dietro al normale canale centrale nella sua linea di saldatura (Leyden, Kahler, Hofmann, Virchow, Schultze (15), dai quali, col concetto eziologico di Conheim per i tumori, prenderebbe poi punto di partenza una neoproduzione gliomatosa. La formazione cavitaria sarebbe poi dipendente dalla dissoluzione della proliferazione primitiva, o per distruzione degli elementi stessi, come è ammesso dalla maggior parte degli autori, o come è ammesso da Babes e Nanicantide (16) per un prodotto di essudazione che dai vasi penetri nel tessuto neoformato e lo rammollisca in modo meccanico.

Alle volte questa neoproduzione gliomatosa è già molto avanzata nella vita intrauterina, come nel caso di Dufour (17), altre volte è in diretto rapporto con anomalie di disposizione delle cellule epiteliali del canale centrale (Rosenthal (18)) o da prolungamenti del canale (Schlesinger (19) o da estroflessione (Stroebe (20), Rosenthal).

Altri disturbi di sviluppo poi possono condurre alla forma-

zione siringomielitica senza l'intermediario della produzione gliomatosa, come l'aplasia del canal centrale, ammessa da Gerlach (22) e l'ampliamento di cavità anomale tappezzate di epitelio e indipendenti dal canale ependimario che si possano trovare congenitamente nel midollo spinale (Korb (21)).

Ma altre cause furono invocate oltre alle ricordate per dar ragione della patogenesi della siringomielia. Tra queste principalissime le lesioni di origine vascolare, sia che dipendano semplicemente da focolai emorragici preesistenti, da apoplessie spinali riassorbite, come nei casi di Kaiser e Kirchenmeister (23), Redlich (24), Vassale (25), Spiller (26), Saxer (27), Hatschek (28), Schultze (29), Thomas (30), ecc., in cui l'emorragia fu dipendente da cause traumatiche (cadute, colpi, parto distocico, ecc.), e allora attorno ai focolai localizzati di emorragia spinale si può avere una vera proliferazione da parte delle cellule periependimali, sia che dipendano da alterazioni vascolari d'altra natura (endoarterite obliterante, o degenerazione ialina) (Joffroy e Achard, Schlesinger (31), Müller-Meder (32), Wieting (33)).

Ma anche il concetto primitivo patogenetico della siringomielia che la riferisce ad un rammollimento di produzione gliomatosa non è così semplice come a tutta prima potrebbe sembrare. Non sempre è facile il determinare se la neoproduzione gliomatosa, di cui generalmente troviamo ancora un'ampia traccia nelle pareti del canale centrale, sia di origine infiammatoria o semplicemente neoplastica.

Così è che pur lasciando da parte la produzione gliomatosa in rapporto alle ricordate alterazioni di sviluppo e nei quali casi si tratta evidentemente di una produzione cellulare autoctona, da molti autori si ammette (Strümpell, Köllicher, Oppenheim (34), Clark, Redlich (35), Handelman, Hatscheck (36)) che questa possa essere determinata da una o da ripetute cause traumatiche che agiscano sul midollo spinale ed altri la riferiscono in molti casi a pregressi processi infiammatorî proprî del midollo (Preobayenski (37), Saxer (38), Alexandroff e Minor (39), Marinesco (40)), sia che lo sti-

molo infiammatorio agisca direttamente sulle cellule ependimali e periependimali, sia che agisca sui vasi e per mezzo di questi conduca alla produzione di rammollimenti, di tratti ischemici successivamente incistidati da uno strato più o meno denso di neuroglia (Jaccoud (41), Vizioli (42)). Ricordiamo ancora rari casi di sir. che sembrano dipendenti da una lesione periferica, dalla quale, specialmente secondo le vedute di Eulemburg, partirebbe poi una neurite ascendente. Tali sono i casi di Stein, Saxer (49), nei quali per la neurite ascendente è durevolmente trasmesso al midollo uno stimolo infiammatorio. Questa interpretazione si avvicina al concetto di quegli autori e specialmente di Stein e Sambacco Pacha, che vorrebbero ravvicinare sempre la sir. ad una lepra anestetica, teoria che oggi giorno si deve assolutamente escludere perchè casi di sir. si trovano in territori assolutamente immuni di lepra e perchè la diagnosi differenziale di sir. da lepra anestetica si deve fare solo quando nelle sezioni sia dimostrabile il bacillo proprio della lepra.

Ora, se in alcuni casi per il reperto istologico o per la storia clinica riesce ancora facile o possibile il distinguere se ci troviamo di fronte ad una proliferazione gliomatosa (gliosi) o piuttosto ad una neoplastica (gliomatosi), in altri casi non è possibile di farlo e tanto più che molte volte le lesioni vascolari ritenute per primitive non rappresentano che una manifestazione secondaria della primitiva neoproduzione gliomatosa centrale.

Da queste brevi considerazioni ora esposte, vediamo quanto sia complesso ed incompleto ancora lo studio della siringomielia. Non abbiamo voluto diffonderci ulteriormente colla citazione di molti altri lavori su questo argomento, perchè in pubblicazioni affatto recenti e numerose è facile trovarne la bibliografia completa (48-49-50-51-52-53). Possiamo però subito comprendere come lo studio di ogni singolo caso di siringomielia che ci si presenti, sia ancora meritevole di studio per i molteplici problemi che vi si connettono.

Io devo appunto alla cortese offerta del chiar^{mo} Prof. Foà

l'opportunità di averne potuto studiare due casi, raccolti al suo Istituto di Anatomia patologica di Torino, quando vi ero ancora assistente. Disgraziatamente di ambedue i casi mi fu impossibile di avere la storia clinica, e per questo mi manca ogni notizia precisa ed attendibile riguardo alla loro sintomatologia. Dal lato anatomico ed istologico però sono certamente interessanti e per questo li ho ritenuti degni di nota.

Il primo si riferisce a:

Durando Margherita, di anni 71, m. il 14 ottobre 1897. La necroscopia fu praticata il 16. Si ebbe il seguente reperto: — Putrefazione incipiente. Costituzione scheletrica esile, e come vedremo in seguito, deforme agli arti superiori. Muscolatura atrofica. La calotta del cranio è di volume normale. Le ossa parietali si presentano assottigliate, quasi prive di diploe. La dura madre è lassamente aderente colla sua faccia esterna al tavolato interno. Normale il circolo della base e normale la configurazione esterna del cervello. Ventricoli laterali d'aspetto normale. Al fornice inferiore del IV ventricolo si nota un' apertura abnormemente ampia del canale centrale, che, esportato il midollo spinale, si vede continuarsi in un canale largo irregolarmente, che si continua fino alla regione lombare. Per la presenza di questa cavità il midollo si presenta schiacciato e molle e solo alla regione lombare si rifà rotondeggiante, e più consistente. Aperta la cavità toracica si trova il cuore flacido, senza alterazioni valvolari ed i polmoni con un edema diffuso ipostatico della base. Nulla di notevole per noi, nei visceri contenuti nella cavità addominale.

Al gomito destro si ha un escara rotondeggiante da decubito, e nei tessuti molli della parte anteriore dell'avambraccio esiste un vasto ascesso che ne infiltra tutta la massa muscolare. In corrispondenza dell'unione dei due terzi superiori col terzo inferiore dell'ulna si nota un' anormale mobilità dell'osso dipendente da frattura, che messo a nudo l'osso, si dimostra completa, ma non recente, perchè si ha un notevole ingrossamento dei due monconi (Tav. I, Fig. 1ª). La mano destra è foggiata ad artiglio per una tenace flessione delle dita. La regione radio carpea è tumefatta per edema inflammatorio collaterale. Il dorso della mano e le dita invece sono asciutte e la pelle vi è sottile, secca e grinza. L'articolazione del gomito presenta un ingrossamento dei capi articolari, e la cartilagine di questi è in qualche punto usurata, nell'articolazione esiste un corpo libero cartilagineo, peduncolato. Alla spalla destra esiste lussazione completa

dell'omero con allungamento dell'apparato legamentoso e un corpo libero nell'articolazione.

La clavicola destra è foggiata ad angolo (Tav. I, Fig. 3ª) con forte ingrossamento del suo terzo posteriore. La scapola destra (Tav. I, Fig. 4ª) presenta un forte ingrossamento della regione sottospinosa che si continua con un ingrossamento diffuso a tutto il contorno della cavità articolare dell'omero. La porzione laminare è sottile, pergamenacea, trasparente, e il bordo è notevolmente ingrossato specialmente all'angolo inferiore. La mano sinistra (Tav. I, Fig. 2ª) è tozza, grossa e corta, per una scomparsa quasi completa dell'ultima falange delle dita, con raggrinzamento delle parti molli, riduzione del letto ungueale e dell'unghia, ridotta al mignolo ad una piccolissima squammetta. Il polpastrello del pollice è ingrossato e così le parti molli del dorso della mano, che sono gelatinose. La scapola sinistra (Tav. I, Fig. 5ª) è anche sottile nella parte mediana e presenta una frattura (a linea di frattura spezzettata) trasversale a sei centimetri all'incirca sopra l'angolo inferiore della scapola stessa. Vasto decubito alla regione sacrale. Aperte le articolazioni degli arti superiori e inferiori si trovano molto ampie, ricche di sinovia con cartilagini usurate e scarse neoproduzioni nodose. Disarticolato lo scheletro e segate in varia direzione le ossa, si nota che insieme all'usura della cartilagine nei capi articolari c'è anche una diminuzione della sostanza spugnosa con allungamento ed ampliamento della cavità midollare. L'ulna destra è ispessita alla sua estremità superiore e presenta una neoformazione di tessuto spugnoso con resti di cavità midollari. Nella linea di frattura poi presenta un aspetto giallastro come di necrosi dell'osso, mentre tutto all'ingiro evvi neoformazione periostale. L'omero destro (Tav. I, Fig. 8ª-9ª) presenta in corrispondenza dei capi articolari un assorbimento di sostanza spugnosa, e lungo la diafisi in un punto circoscritto in corrispondenza della sua porzione mediana ed esterna presenta un notevole ispessimento periostale.

Anche il radio destro (Tav. I, Fig. 6ª-7ª) presenta un rigonfiamento al suo terzo superiore per evidente neoproduzione peri ed endosteale. L'apofisi spinosa della scapola destra ingrossata è costituita da solo tessuto spugnoso.

Riassumendo, noi ci troviamo dinnanzi ad un caso di siringomielia con lesioni trofiche multiple, con un vasto ascesso recente suppurativo all'avambraccio destro, certamente dipendente da una infezione secondaria.

Il sistema nervoso di questo caso fu raccolto in liquido di Müller e le sezioni furono poi trattate per la colorazione coi metodi di

Weigert modificato Pall (con una contemporanea colorazione nucleare coll'allume carmino) e col metodo di Van Gieson e di Malory per la differenziazione del connettivo e della neuroglia.

Il midollo spinale lo abbiamo esaminato sistematicamente nelle varie regioni. A piccolo ingrandimento, la cavità siringomielitica della regione cervicale, si presenta come una larga fessura trasversale che interessa il midollo nella sua totalità in corrispondenza dell'unione dei suoi due terzi anteriori col terzo posteriore ed interessante completamente la commessura posteriore, e comprendente nella sua concavità rivolta all'indietro i cordoni posteriori. Le corna anteriori della sostanza grigia, sono conservate fino alla corrispondenza del corno laterale o tratto intermedio laterale, dove sono interotte dalla parete della spaccatura che nelle sue parti laterali occupa completamente e sostituisce le corna posteriori della sostanza grigia, arrivando coi suoi margini laterali fino alla pia meninge, colla quale sembra continuarsi in corrispondenza al punto di origine delle radici posteriori. Questa disposizione si mantiene per tutto il rigonfiamento cervicale, poi va la fessura gradatamente restringendosi (specialmente ai lati) fino alla regione dorsale dove cessa al punto d'unione dei suoi due terzi superiori col terzo inferiore. Nel tratto sottostante, per due o tre centimetri, si continua con una piccola zona scolorata a disposizione trasversale e occupante la commessura posteriore. A cominciare poi dal terzo inferiore della regione cervicale e per tutta la region dorsale anche al di là del punto di chiusura del canale siringomielitico, si scorge una produzione miliare rotondeggiante, più intensamente colorabile e avente confini netti col tessuto circostante e posta alla base del corno anteriore di destra e interessante in piccola parte la porzione esterna del fascio residuo o fondamentale del cordone anteriore. Del canale centrale, a questo ingrandimento, si trova solamente traccia nel midollo lombare, dove non esiste più la zona scolorita ricordata, e si scorgono già le aree di degenerazione e di sclerosi nei fasci spinali, come ora vedremo.

A più forte ingrandimento, nella regione cervicale, troviamo che tanto il f. piramidale diretto come il f. fondamentale del cordone ant. sono normali e le loro fibrille vi dimostrano volume e disposizione regolare. Nei cordoni post. invece il fascio di Goll è quasi totalmente privo di fibre mieliniche, e quindi è scolorato e costituito da un tessuto connettivo sclerotico povero di nuclei, e solo nel suo margine post. ed esterno esiste qualche tratto in cui si trova qualche fibrilla nervosa isolata, ben conservata, alternata da altre o rigonfiate o mal colorabili e quindi in manifesto processo

degenerativo. Anche il contiguo fascio di Burdach, però in minor grado, presenta sclerosi connettivale e molte fibre nervose nelle quali sono scomparsi i centri concentrici normali attorno al cilindrasse (per una tumefazione della mielina) tantochè il contorno di questo, per essere atrofico, assomiglia più ad una linea irregolare che ad un punto centrale. Altre fibre sono ingrossate, altre esilissime.

Nei cordoni laterali esiste pure una vasta zona comprendente i f. cerebellari diretti, i f. piramidali crociati e il f. ascendente di Goovers, nella quale le fibre nervose sono molto rare e rigonfiate e contornate da un tessuto sclerotico di connettivo compatto, povero di nuclei. Invece il f. fondamentale del cordone laterale e la parte anteriore del fascio laterale profondo, sono, per la disposizione delle fibre, normali. La commessura anteriore è ben formata e ricca di fibre trasversali, mentre la posteriore è completamente distrutta. Queste alterazioni si continuano con poca diversità di grado lungo tutta la regione cervicale e nella parte alta della regione dorsale, e vanno riducendosi in corrispondenza della chiusura della cavità siringomielitica, tantochè poi nella regione lombare la disposizione dei fasci e la struttura delle fibre è normale. Non diffondendoci ulteriormente su queste lesioni, mancandoci la sintomatologia clinica cui riferirle, possiamo riassumerle: nella scomparsa delle corna posteriori della sostanza grigia, in una degenerazione sistematica ascendente delle fibre sensitive (f. di Goll, f. di Burdach, f. cerebellare diretto) con profonde alterazioni delle fibre commessurali (f. laterale profondo). Integrità delle vie motrici del f. piramidale diretto, mentre parte del piramidale crociato, per la vicinanza della lesione siringomielitica è in parte alterato.

La parete della cavità siringomielitica si dimostra e per la forma e la disposizione dei suoi elementi, e per la loro colorazione elettiva, costituita da elementi nevrolgici. Sono elementi cellulari mononucleati, a molteplici prolungamenti aracniformi, che nello strato più interno della parete sono fittamente intrecciati tra loro, ed essendo prevalentemente disposti nella stessa direzione formano un tessuto d'aspetto fascicolato-fibroso. Nello strato più esterno sono invece più lontani gli uni dagli altri e nell'insieme offrono l'aspetto istologico di una vera neoproduzione gliomatosa. Tra gli elementi della neuroglia non si trovano discernibili nè cellule, nè fibre nervose, e solo all'estrema periferia, dove il tessuto nevrolgico neoformato si continua col connettivo sclerotico dei cordoni posteriori e laterali, si trova qualche fibrilla nervosa degenerata, alternata ad elementi nevrolgici. Immediatamente sotto al punto di chiusura della cavità siringomielitica, esiste un tessuto d'aspetto reticolato, composto

dagli stessi elementi aracniformi costituenti la parte esterna della parete siringomielitica, contornato da un tessuto sclerotico, scolorato, povero di nuclei. Anche in questo prolungamento di tessuto gliomatoso mancano elementi nervosi. Poi anche questo si va riducendo, ricompaiono le fibre commessurali posteriori e la struttura del midollo ritorna normale.

Anche la piccola produzione miliare alla base del corno anteriore è esclusivamente composta di elementi di nevroglia e rappresenta un vero nodo gliomatoso isolato, nel quale non esistono elementi nervosi. Questo nodo ha limiti netti, e i suoi elementi sono perfettamente conservati e ben colorabili. Esaminati accuratamente i vasi del midollo spinale, tranne una leggiera dilatazione delle diramazioni vascolari della pia, li abbiamo trovati d'aspetto assolutamente normale, a pareti sottili e nella disposizione stessa degli elementi elastici (colorati col metodo di Weigert) non si trovano alterazioni degne di nota. Il canale centrale è pervio e ben formato nella regione lombare. Scompare in corrispondenza della produzione gliomatosa, che continua la cavità siringomielitica e non se ne trova più traccia per tutta la lunghezza della regione dorsale. Nella regione cervicale invece si trovano piccoli tratti del canal centrale ben conservati coll'ependima normale e talora circondati da un piccolo accumulo di elementi mono nucleari, periependimali. In altri tratti il canale centrale è rappresentato da un lembo di epitelio ependimale aderente alla parete gliomatosa, la quale del resto, tranne in questa limitata regione, è priva in superficie, di rivestimento epiteliale. Nel suo spessore invece sono visibili piccole inclusioni epiteliali, talora a cellule accoppiate, talora a piccoli lembi ricurvati, quasi a formare il cul di sacco di otricoli ghiandolari, elementi epiteliali aventi tutti i caratteri delle cellule ependimali. Le grosse cellule nervose delle corna anteriori non presentano alterazioni degne di nota, e così le cellule nervose delle corna posteriori, nella region lombare, perchè solo in questa regione queste corna sono conservate. Normali le meningi lungo tutto il decorso del midollo spinale.

Riassumendo nel nostro caso noi possiamo escludere, si tratti di idromielia con successiva formazione gliomatosa delle sue pareti per essere il canale centrale in alcuni punti indipendente dalla cavità siringomielitica. Parimenti possiamo escludere l'origine ematomielitica sia per la perfetta integrità delle pareti vascolari, sia per la assoluta mancanza nelle pareti

della cavità siringomielitica di residui emorragici di pigmento ematogeno, criterio questo che per noi è importante (quantunque alcuni autori lo ritengano oggi privo di alcuna importanza) specialmente se consideriamo quanto avviene nelle cisti apoplettiche del cervello nelle quali pigmento sanguigno si ritrova sempre.

La presenza infine del cordone gliomatoso sottocavitario, al termine della regione dorsale, e la presenza di un piccolo cordone gliomatoso parallelo ma indipendente dalla grossa cavità, ci fanno ritenere che questa sia originata dalla fusione centrale di una neoproduzione gliomatosa, ipotesi che se un tempo si invocava a spiegare tutti i casi, si tende forse oggi ad escludere con troppa frequenza.

La sede della produzione gliomatosa nel nostro caso (nella sostanza grigia della commessura e delle corna posteriori) è quale più frequentemente si osserva (62 $^0/_0$ dei casi) e mentre i cordoni anteriori sono risparmiati, sono interessati i fasci piramidali, alla lesione dei quali è associata la paraplegia spasmodica, tanto frequente nella siringomielia.

Ma le due produzioni gliomatose, la cavitaria e la solida, da quali elementi sono originate? Noi abbiamo veduto come nella parete gliomatosa della cavità siringomielitica esistessero delle formazioni epiteliali che per la forma e la disposizione degli elementi si possono interpretare o come estraflessioni del canal centrale o come germi aberranti di ependima.

Da questi elementi è originato il tessuto gliomatoso. Questo concorda colle nuove vedute embriologiche della neuroglia di Golgi, Caial e Kölliker secondo i quali le cellule ependimali sarebbero appunto le cellule madri degli elementi nella neuroglia, e con quanto è oggi universalmente ammesso sull'origine dei gliomi cerebrali che dalle osservazioni di Stroebe (54), Bucholtz (55), Boest (56), Pokoloff (57), Rosenthal (58), Fabris (59) deriverebbero anche da germi ependimali aberrati dall'epitelio del tubo nervoso primitivo.

Studiata così e riconosciuta la natura della lesione spinale è utile che ora studiamo le lesioni anatomiche secondarie da

questa determinate, lesioni tanto frequenti nella siringomielia e certamente d'origine trofica. Nella siringomielia si ha infatti facilmente atrofia dei muscoli volontari, per un certo tempo confusa con l'amiotrofia progressiva, ora nel nostro caso questa atrofia, avendo interessati specialmente i muscoli della eminenza ipotenare ed interossei, ne risultò una caratteristica mano ad artiglio come si osserva nei casi classici di atrofia muscolare a tipo Aran Duchenne.

Nella siringomielia si hanno frequenti lesioni cutanee svariatissime e di queste troviamo traccia nel nostro caso nelle ulcerazioni da decubito con gangrena sottostante.

Nel nostro caso poi una mano presenta i tegumenti ispessiti edematosi, da darci il quadro tipico della mano succulenta, mentre l'altra quella foggiata ad artiglio mostra la pelle assottigliata e liscia (glossy-skin). La mano destra poi presentava mutilazione delle dita che possiamo (per quanto la storia clinica sia muta) riferire a paterecci pregressi, tanto frequenti in questa affezione, indolenti e guaribili, con distruzione di frammenti ossei e retrazioni tendinose.

Anche le descritte lesioni ossee e articolari del nostro caso — per essere localizzate agli arti superiori sono del tipo e della sede che più frequentemente si trovano nella siringomielia, tanto è vero che in questa Kofend (60) trovò frattura spontanea della testa degli omeri con successivo riassorbimento dei capi articolari, Laese (61), ipertrofia delle epifisi del radio e dell'ulna, Pokoloff (62) fratture spontanee del radio con lesioni articolari e paterecci, e Kottwiackel (63), Marie, in 80 °/₀ dei casi, fratture spontanee ed ispessimenti delle diafisi.

Ma nella sir., specialmente dal lato clinico, si vennero in questi ultimi anni formando dei gruppi distinti, descritti a parte con un nome a sè, quasi fossero una malattia assolutamente distinta. Questa differenziazione basata in principio sulla descrizione di alcuni pochi casi, va perdendo oggi terreno, e se da una parte si riconosce che il nome di siringomielia è troppo vago, ed indica processi patologici e quadri

clinici troppo differenti tra loro, d'altra parte si riconosce che troppa parentela hanno tra loro, ad es.: la malattia di Morvan, la malattia di Raynaud, ecc., perchè non si debbano intendere piuttosto come semplici varietà di siringomielia che come forme distinte e costanti.

Perciò, se anche il nostro caso per la speciale disposizione delle lesioni anatomiche, potrebbe forse da taluno riferirsi al quadro della malattia di Morvan, per altri dati se ne differenzia, ed *è più giusto il classificarlo come un caso di siringomielia a tipo Morvan.* Così ci avviciniamo al concetto di Federoff e di Goldscheider che in casi simili a questo vennero alle stesse conclusioni. Ed il concetto unitario delle due affezioni del resto va sempre più affermandosi ed anche i più recenti autori sull'argomento lo ammettono (Hoffmann, Dimitroff, Schlesinger, Morpurgo, ecc.). La ragione poi delle descritte lesioni trofiche noi (oggi che l'esistenza tanto contrastata dei centri e nervi trofici è sperimentalmente dimostrata e clinicamente riconosciuta) la troviamo nelle profonde alterazioni primitive e secondarie del midollo spinale e specialmente nella distruzione dei centri midollari, da cui dipende la nutrizione dei tegumenti e delle ossa delle estremità superiori. Per quello che riguarda le ossa, com'è ricordato da Bonome (64) (nella interessante sua monografia) la lesione trofica conduce ad una grande fragilità, e perciò sono fragili le ossa nella tabe (Weir Mitchel (65), Charcot (66), Oulmont (67), Hutchinson (68), Sturge (69), Westphal (70), Bruns (71), nella paralisi generale e nella demenza paralitica (Gudden (72), Mercer (73), Bonnet (74)) e negli animali cui si producono sperimentalmente lesioni trofiche. Questa fragilità dipende da atrofia specialmente midollare, e nelle lesioni trofiche sperimentali può essere anche accompagnata da parziali ipertrofie locali, e talora (Bonome) il periostio e il midollo sembra che subiscano la metamorfosi in tessuto connettivo fibroso, o in tessuto condroide.

Nel nostro caso abbiamo raccolte le ossa e le articolazioni

nel liquido di Müller. Parte le abbiamo esaminate dopo il semplice soggiorno prolungato nel liquido del Müller che, come è noto, ha un debole potere decalcificante, parte, le più grosse, le abbiamo decalcificate nella soluzione satura di NaCl. coll'aggiunta del 5 °/₀ di HCl. Come metodo di colorazione, oltre a quella nucleare colla ematossilina o coll'allume carmino, abbiamo adoperata la doppia colorazione all'ematossilina e carmino neutro, o la miscela di Pommer (dalia, safranina e verde metile) che colorano diversamente le parti calcificate dalle non calcificate. Da questo esame istologico abbiamo ricavate dalle osservazioni interessanti, alcune riferentesi alle singole ossa, altre d'ordine generale riferentisi a tutte le ossa esaminate, e che ci dànno così la sintesi, la fisonomia, direi quasi, di questo processo patologico.

Dirò ora succintamente delle une e delle altre.

Ossa esaminate. — Falangi delle dita della mano sinistra (quella tozza e succulenta): Queste falangi sono corte e tozze. L'ultima del mignolo è scomparsa e al suo posto esiste un nocciuolo di tessuto fibroso compatto, con rarissimi nuclei allungati e che non ricorda affatto per la disposizione dei suoi elementi il tessuto osseo al quale si è sostituito. Lo stesso reperto si ha alla seconda falange del pollice, dove però esiste ancora un rudimento di articolazione tra questo nocciuolo fibroso e l'estremità articolare, mentre al mignolo ogni traccia di articolazione è scomparsa.

La cartilagine articolare delle altre falangi è molto alterata e specialmente alla sua parte mediana, dove ha assunto un aspetto fibroso, senza limite netto perchè è come sfrangiata e non vi si scorgono più lacune o cellule cartilaginee. Si ha una vera metamorfosi fibrosa della parte centrale della cartilagine senza però che vi si trovi una corrispondente proliferazione delle cellule cartilaginee sottostanti, come molte volte in casi simili è facile di osservare. Al cercine ghiandolare invece la metamorfosi fibrosa è meno avanzata, lo strato cartilagineo è più spesso e sotto a questo si trova una zona condroide che occupa gran parte della sostanza ossea. In sezioni poi delle falangi praticate parallelamente al diametro longitudinale noi troviamo come il tessuto compatto e il tessuto spugnoso sono in avanzato processo di assorbimento. Il primo è assottigliato, e si ha una notevole dilatazione dei canali di Havers, e l'atrofia sembra partire dal canale midollare, perchè da questo lato

l'osso presenta margini irregolari e vi si trova ancora traccia evidente dell'erosione lacunare (lacune di Howship) che dà un aspetto aspro ed eroso alla superficie stessa. In queste lacune poi sono scarsissimi gli osteoclasti ed i pochi ancora visibili sono rappresentati da un piccolo accumolo di nuclei a contorno poco distinto. Anche le trabecole ossee del tessuto spugnoso sono assottigliate e in qualche punto si nota una certa tendenza alla sostituzione dell'osso con un connettivo giovane.

La cartilagine alla sua parte mediana non ha limiti netti col tessuto osseo spugnoso sottostante, ma si continua con un tessuto osteoide compatto non calcificato, tessuto che alle parti laterali, per la comparsa in esso di lacune e di elementi affatto simili alle lacune e alle cellule cartilaginee, assume l'aspetto di una vera cartilagine. Questo tessuto cartilagineo così sembra continuarsi ai lati coi bordi della cartilagine articolare di cui sembra una continuazione, quasi una extroflessione. Come dobbiamo noi interpretare questo tessuto condroide? Non come una dipendenza della cartilagine articolare, perchè questa non presenta alcun segno di proliferazione e con questa non ha che un rapporto di vicinanza, e da questa si differenzia per l'assoluta incolumità dalla trasformazione fibrosa. Si potrebbe allora pensare derivasse dal periostio proliferante. Infatti in molti casi dal periostio si origina una sostanza omogenea in parte striata che non subisce poi la trasformazione fibrosa ma diventa ialina e contiene condrina e in essa giacciono degli elementi cellulari contornati da uno strato di tessuto non rinfrangente. Ma nel nostro caso non si ha apposizione di nuovo tessuto dal periostio, e il tessuto condroide gradatamente si continua coll'osso calcificato e ne rappresenta una vera metaplasia Anche le trabecole della sostanza spugnosa partecipano a questo processo, e dapprima presentano solo i bordi decalcificati, poi tutto il loro spessore si fa fibroso, e successivamente omogeneo, colle reazioni istochimiche della cartilagine.

Questa metaplasia del tessuto osseo in tessuto cartilagineo è il fatto più interessante presentato da queste falangi e si trova in grado più o meno avanzato anche nelle ossa corte della mano. Le falangi invece della mano destra ch'erano più sottili e fragili, presentano un assottigliamento più manifesto dell'osso compatto con ampliamento notevole del canale midollare e riduzione del tessuto spugnoso dipendente da assorbimento lacunare con dilatazione dei canali di Havers. Queste ossa però non presentano la metaplasia cartilaginea già descritta e le cartilagini articolari pur essendo assottigliate non presentano usure o metamorfosi fibrose come quelle riscontrate nell'altra mano.

Diafisi del radio, dell'ulna e dell'omero. Anche queste ossa presentano un riassorbimento prevalentemente lacunare con dilatazione del canale midollare. Il tessuto osseo compatto residuante, per quanto assottigliato è ancora calcificato e così si spiega la sua facile fratturabilità. Abbiamo veduto poi come l'ulna, l'omero e il radio presentassero degli ingrossamenti da produzione peri ed endoosteale. In gran parte questi sono costituiti da un tessuto osteoide solo parzialmente calcificato e che quindi non conduce mai alla produzione di vero tessuto osseo, come si ha tanto frequentemente in vicinanza di focolai di riassorbimento. Questo tessuto osteoide in parte deriva dallo strato periostale interno, in parte di origine midollare. I due monconi corrispondenti alla linea di frattura dell'ulna sono molto ingrossati. Anche qui esiste una neoproduzione di sostanza osteoide sotto periostale e midollare, molto povera di elementi, non calcificata e in qualche punto avente una struttura fibrosa.

Le superfici di frattura sono rivestite da un tessuto fibroso, e tra i due strati fibrosi esiste qualche fimbria connettiva che determina delle lasse aderenze. Nel tessuto osteoide, come manca un vero processo di calcificazione, che accenni ad una sua graduale trasformazione in tessuto osseo, manca anche qualunque accenno a quel processo di assorbimento che segue sempre, nella formazione dei calli normali, alla prima attiva proliferazione periostale e mielogena.

Quest'arresto del processo al suo primo inizio è certo in rapporto alla lesione trofica. Nella frattura poi della scapola (fors'anco per essere questa più recente) manca anche questo primo momento e non vi ha traccia del processo riparatore.

Le due scapole presentano la parte mediana molto sottile. Qui l'osso è completamente decalcificato e sostituito da un tessuto fibroso a maglie larghe, fascicolato e poverissimo di nuclei. Il cercine articolare dell'omero è notevolmente ispessito, è formato da tessuto spugnoso a maglie molto larghe e le trabecole vi sono in gran parte decalcificate. I bordi invece e specialmente la punta della scapola non presentano più la struttura d'osso spugnoso, ma risultano costituiti da un tessuto omogeneo non fibrillare, nel quale sono irregolarmente sparsi o raggruppati in serie di due o tre, degli spazi lacunari comprendenti uno o parecchi elementi cellulari rotondeggianti. Qui si ha così un bellissimo esempio di metaplesia condroide del tessuto osseo, molto più estesa di quanto abbiamo veduto avvenire nelle ossa della mano. Lo strato più profondo, solo, ha struttura leggermente fibrillare (Tav. II, fig. 5ª).

Esaminando poi le superfici articolari delle varie articolazioni aperte, oltre alla ricordata metaplasia fibrosa della cartilagine articolare, abbiamo riscontrato in corrispondenza delle usure tanto frequenti, oltre allo sfibrillamento e screpolamento della cartilagine, anche dei focolai di rammollimento con formazione di cavità negli strati più profondi. E non solo si notano questi fatti distruttivi, ma esistono anche dei fatti attivi. La sierosa presenta dei villi rilevati, alcuni dei quali infiltrati di grasso, altri costituiti da un tessuto omogeneo condroide con lacune e cellule cartilaginee. Esaminati in fine i corpi liberi trovati nella articolazione, si mostrano costituiti da un nocciuolo di sostanza ossea contornato da uno strato cartilagineo.

Nel nostro caso dunque le lesioni ossee trofoneurotiche sono di varia natura. Si hanno: *Fenomeni di assorbimento affatto simili a quelli che si osservano nel normale riassorbimento senile ;*

Fenomeni di apposizione per compartecipazione attiva del periostio e del midollo e neoproduzione di tessuto osteoide (non mai calcificato).

Metaplasia fibrosa e condroide del tessuto osseo stesso.

Queste varie lesioni si alternano disordinatamente nelle varie ossa degli arti superiori (dei quali la cavità siringomielitica ha specialmente lesi i centri trofici) senza che sia sempre possibile dimostrarne la dipendenza reciproca e la cronologia, colla quale si sono seguite. Queste lesioni trofoneurotiche dunque non presentano una lesione specifica che le caratterizzi, ma si differenziano da altri disturbi di nutrizione delle ossa (senilità, osteomalacia, rachitismo), giacchè come questi non presentano un quadro costante che si ripeta e si rassomigli da caso a caso.

E quello che si dice delle lesioni ossee, lo si può ripetere per le lesioni articolari, che sono pure, come abbiamo veduto, svariatissime.

Nel nostro caso abbiamo ancora riscontrata poca o nessuna tendenza alla cicatrizzazione delle fratture spontanee, nelle quali non si riscontra mai quella attiva proliferazione del periostio e del midollo che, come sappiamo, conducono alla for-

mazione del callo. Similmente le lussazioni spontanee non hanno nessuna tendenza alla produzione di pseudoartrosi robuste e compatibili con una certa funzionalità.

Complessivamente dunque tanto le lesioni ossee, quanto le articolari dipendono più da un processo passivo che attivo — l'assorbimento dapprincipio lacunare con l'intervento degli osteoclasti si fa successivamente liscio e la scomparsa dei sali calcari e l'imperfetto ricambio che impedisce una calcificazione ed ossificazione di compenso favoriscono la metaplasia fibrosa e condroide del tessuto osseo compatto.

Il secondo caso da noi studiato si riferisce a

Maria ved. Mag. . . . , di anni 54, m. il 5 ottobre 1898. L'autopsia, da me praticata all'Istituto di Anatomia Patologica di Torino, diede il seguente reperto: Putrefazione incipiente. Scarsa la nutrizione delle masse muscolari e della cute. Aperta la calotta del cranio, la si trova molto grande, regolarmente assottigliata, specialmente a spese dei due tavolati, giacchè la diploe è abbondante. La faccia interna della regione frontale presenta molte smagliature, come da penetrazione di una grande quantità di vasi dalla diploe. I seni frontali sono ampi e la loro parete ossea è esilissima. Alla base del cranio poi, dopo l'esportazione del cervello si trova molto profonda la sella turcica, occupata dal corpo pituitario largo e voluminoso. L'apofisi basilare dello sfenoide sporge in alto in modo che il foro vertebrale è più profondo ed elittico e da questo ne deriva uno schiacciamento della sostanza cerebrale in corrispondenza del ponte e particolarmente sui peduncoli *cerebelli ad pontem*.

La dura madre ha tensione normale. La configurazione esterna del cervello visto dalla sua faccia superiore è relativamente regolare, alla faccia inferiore invece si notano le depressioni già descritte. Normale il circolo della base. Normali i ventricoli laterali. Normali al taglio i gangli della base. Atrofiche le eminenze quadrigemine, d'apparenza normale il IV ventricolo. Nulla agli emisferi cerebellari, eccetto un' apparente atrofia dei peduncoli *cerebelli ad testes*. La ghiandola pituitaria è uniformemente ingrossata ad assumere il volume di una noce e non è più discernibile il confine tra le due sostanze. La superficie del taglio praticato a tutto spessore è bianco-roseo, d'aspetto neoplastico.

Il midollo spinale è appiattito e molle nella sua porzione superiore, mentre ha forma e consistenza normale alla region lombare.

Nella regione cervicale al taglio, si notano due cavità centrali, a contorni irregolari, compresse trasversalmente, e che interessano variamente la sostanza grigia e la bianca. Le due cavità a metà circa della regione cervicale si fondono in una cavità sola, la quale si continua restringendosi sempre fino alla fine del midollo dorsale, poi cessa.

Poco di notevole nei visceri toracici. Il cuore è atrofico, flacido e nei polmoni si nota una bronchite catarrale, diffusa, bilaterale. Esportati questi organi, si nota una leggiera scoliosi destra del torace con lordosi, la quale si trova poi più accentuata e combinata con una lardosi nella regione addominale. Nulla di notevole per noi, nei visceri della cavità addominale. I lobi tiroidei sono ingrossati e presentano dei tratti fibrosi alternati da cisti colloidee in parte calcificate. Escare da decubito al sacro ed al calcagno destro.

La mano sinistra ha le dita sottili e distese, con unghie ispessite, arcuate nel senso laterale e ricurve anche nel senso longitudinale, tanto da foggiarsi ad artiglio; all'indice l'unghia riflessa raggiunge la faccia palmare del polpastrello. I tessuti molli del dorso della mano sono gelatinosi e la pelle soprastante vi è tesa e lucente.

La mano destra invece è più corta, le dita sono arcuate per una flessione forzata, e anche qui le unghie sono notevolmente ingrossate e ricurve. Manca l'ultima falangetta del dito medio, sostituita da un tessuto sclerotico cicatriziale e l'unghia vi è curvata ad artiglio.

Le ossa delle estremità superiori liberate dalle masse muscolari leggermente atrofiche, non sono deformate, sono consistenti ed il canale midollare ha l'ampiezza normale. Non esistono fratture spontanee. I corpi vertebrali della regione dorsale e lombare sono deformati e insieme all'assottigliamento ed alla scomparsa di tratti più o meno estesi dei legamenti interossei concorrono alla formazione dei vizi già descritti, nella curvatura della colonna vertebrale. Le superfici cartilaginee dei corpi vertebrali hanno perduto il loro aspetto levigato, e si presentano in parte erose, in parte e specialmente al centro, d'aspetto villoso, fibrillare. Tanto i corpi vertebrali, come le ossa della base del cranio, sono facilmente compressibili per un notevole assottigliamento del loro già sottile rivestimento di tessuto osseo compatto, e risultano a preferenza costituite da solo tessuto osseo spugnoso, anche questo molto molle.

Anche di questo caso abbiamo raccolto il midollo spinale per un successivo esame istologico. In questo caso per la fissazione abbiamo adoperata una soluzione satura acquosa di acido picrico coll'aggiunta di 5 $^0/_0$ di formalina, facendo passare i pezzi dopo una settimana,

per parecchi giorni (7-14), in una soluzione di bicromato di ammonio al 2 °/₀. Questo metodo è adoperato, come sappiamo, per ottenere poi col metodo Malory una più distinta colorazione del tessuto nevrolgico. Le ossa furono trattate per la decalcificazione e colorazione coi metodi già ricordati per l'altro caso.

Midollo spinale. — Nella parte alta della regione cervicale si scorge la sezione trasversa di due ampie cavità, a contorno irregolare, assolutamente indipendenti dal canale centrale e interessanti la commessura posteriore e parte dei cordoni laterali e posteriori.

L'irregolarità della parete sembra dipendere più da un afflosciamento per svuotamento del contenuto, che da produzioni villose endocavitarie. Infatti le pliche sono molto ampie e interessano a tutto spessore i varî strati di cui la parete si dimostra costituita. A metà circa della regione cervicale le due cavità si fondono in una sola che mantiene la disposizione trasversale ed il contorno irregolare. Le pareti di questa cavità mancano completamente di rivestimento epiteliale e risultano costituite da elementi che per la loro struttura e disposizione si dimostrano appartenenti al tessuto nevrolgico e sono più stipati alla parte interna ed i loro prolungamenti sono così stipati e intrecciati da costituire un tessuto d'aspetto fibrillare. Sono poi radi ed isolati alla periferia, dove si ha così una zona meno colorata.

Alla regione lombare la cavità cessa bruscamente a cul di sacco e nelle sezioni immediatamente sottostanti non se ne trova più traccia.

Il canal centrale nella regione cervicale è ridotto ad una rima trasversale composta di due strati di epitelio ependimale avvicinati tra di loro fino a collabire, e conserva questa disposizione fino alla regione dorsale, dove riducendosi di estensione, la cavità siringomielitica, si va riducendo e arrotondando per assumere poi nella regione lombare l'aspetto di un accumulo cellulare rotondeggiante, composto di cellule ependimali, come abbiamo veduto trovarsi spesso anche in midolli normali.

Il metodo di colorazione Weigert-Pall con la fissazione usata nel nostro caso, riesce meno bene che nei pezzi fissati in Müller. Bisogna prolungare il soggiorno in ematossilina e stare molto attenti che la decolorazione non avvenga troppo rapidamente. Però con le dovute cautele il metodo riesce e così abbiamo potuto vedere come specialmente nei cordoni posteriori e laterali esistesse un processo sclerotico con degenerazione e scomparsa delle fibre nervose compresevi, non però una scomparsa completa, perchè in tutti i cordoni si possono discernere fibre nervose ben distinte e normali.

I cordoni anteriori e laterali anche in questo caso sono ben conservati. Se questo metodo di fissazione però presenta qualche inconveniente per la colorazione delle fibre nervose, riesce ottimo per la colorazione e la dimostrazione della cromatina cellulare nelle grandi cellule nervose delle corna anteriori e posteriori. A questo scopo basta lasciare le sezioni per 6-10 ore in una buona soluzione di ematossilina e trattarle successivamente colla soluzione di carbonato di litina all'1 $^{0}/_{0}$, perchè si ottengano delle immagini nettissime, affatto simili a quelle che si hanno col metodo classico di Nissl o colle conosciute sue modificazioni.

Con la mia modificazione però si ha il vantaggio della grande stabilità dei preparati che si conservano inalterati, mentre quelli colorati col bleu di metile e colla tionina facilmente scolorano.

Colorando ora questi elementi con questo metodo, li abbiamo trovati ben conservati, e specialmente le cellule delle corna anteriori, colla disposizione classica della cromatina cellulare, senza alcune delle tanto conosciute forme di cromatolisi cellulare. In queste cellule abbiamo solo riscontrato un forte aumento di pigmento.

Abbiamo anche esaminato il tumore dell'ipofisi. Questo si dimostra adenomatoso, è infatti costituito da una trama esile di connettivo che delimita degli alveoli tappezzati da elementi epiteliali, mononucleati, a nucleo centrale allungato, ben colorabile, che ricordàno per la loro forma e costituzione e gli elementi epiteliali proprii della porzione ghiandolare della ghiandola pituitaria e gli elementi ependimali (Tav. II, fig. 3ª).

La più gran parte di questi alveoli sono vuoti ed il rivestimento epiteliale o collabisce od è disposto a due o tre strati che li otturano completamente o sono dilatati e contengono una sostanza omogenea non differenziabile che alla colorazione dà la reazione propria della sostanza ialina o della sostanza colloide. Il tumore ha vasi proprii e pareti sottili e dilatate e in qualche punto esiste qualche piccolissima emorragia interstiziale. La produzione adenomatosa ha interessata tutta la ghiandola, così le due parti di cui è normalmente costituita non sono più differenziabili.

Esaminata la ghiandola tiroide, si trova come questa sia diffusamente in preda ad una degenerazione cistica o fibrosa; esistono però dei tratti in cui i follicoli, per la loro forma, per la disposizione degli epitelî follicolari e per il contenuto si possono ritenere normali e la ghiandola complessivamente come sufficientemente funzionante.

Le ossa della base del cranio, ch'erano spugnose e molli al taglio, mostrano in sezione una riduzione notevole per assorbimento lacu-

nare e metamorfosi fibrosa dei tavolati e decalcificazione e metamorfosi fibrosa delle trabecole ossee con grande abbondanza di midollo, povero di globuli rossi e ricco invece di elementi linfatici, reperto questo che ci ricorda quello riscontrato da Schultze e Iones (78) in un caso di acromegalia in cui si aveva una grande rarefazione del tessuto osseo del cranio, senza una proliferazione concomitante di tessuto.

Esaminati i corpi vertebrali deformi, si trova come questi presentino delle gravi alterazioni e nella propria cartilagine articolare e come siano profondamente alterati anche i legamenti interarticolari o dischi interossei.

Noi sappiamo che nelle vertebre normali in corrispondenza delle superficie articolari esiste un cercine osseo di sostanza compatta, mentre al centro una lamina cartilaginea copre la parte centrale rendendola piana. Nel nostro caso il cercine osseo ha subito metaplasia cartilaginea e si presenta costituito da un tessuto condroide con lacune e cellule cartilaginee, mentre nella parte centrale la cartilagine ha subito metaplasia fibrosa e solo in rari punti è ancora riconoscibile la disposizione orizzontale delle sue cavità cartilaginee profonde.

Così i legamenti interossei, che normalmente hanno una parte periferica a struttura fibrosa e una parte centrale prevalentemente cartilaginea, non solo sono assottigliati, e in taluni punti anche mancanti, ma si presentano costituiti da un tessuto fascicolato, povero o mancante di nuclei che indica la loro completa metaplasia fibrosa.

Il tessuto spugnoso delle vertebre presenta poi un notevole assottigliamento per erosione lacunare delle sue trabecole, e trabecole uniformemente decalcificate. Anche la già sottile lamina di tessuto osseo compatto del corpo vertebrale è assottigliata per atrofia lacunare.

Esaminate le ossa della mano deforme, dove le dita erano accorciate, vi abbiamo trovate le stesse lesioni con la metaplasia cartilaginea del tessuto compatto e spugnoso che abbiamo già descritto nel primo caso. Le articolazioni invece in questo caso non presentano nessuno dei fatti di proliferazione produttiva, riscontrate in quello. L'apparato vascolare poi di questo individuo, tranne un leggero ispessimento delle sue pareti, riferibile all'età avanzata dell'individuo, non presenta nulla degno di nota.

Ci troviamo dunque in presenza di un caso di siringomielia colla complicazione di un grosso tumore adenomatoso della

pituitaria — con deformità della base del cranio da compressione e deformità delle ossa dello scheletro da lesione trofica. Dobbiamo noi per questi dati ritenerlo un caso di acromegalia? — Certamente no, perchè nel quadro classico della acromegalia si impongono quegli enormi ingrossamenti parziali dello scheletro, tanto caratteristici, che nel nostro caso mancano completamente. Di più mentre sappiamo che nell'acromegalia le lesioni ossee sono specialmente date da una forte riduzione dell'osso compatto con grande produzione di tessuto spugnoso, per un processo di riassorbimento centrale (come anche sul vivo oggi si può dimostrare coll'esame radiscopico) da osteoclasti, accompagnato da osteogenesi periferica dipartentesi dal periostio e dalle cartilagini articolari, nel nostro caso non abbiamo trovato che il primo tempo di questo processo — ed anche questo localizzato alle sole vertebre — ed alla base del cranio. Similmente le lesioni cartilaginee da noi descritte non sono affatto simili a quelle reperibili nella vera acromegalia e che hanno tanta somiglianza colle lesioni articolari dell'artrite proliferante.

Dobbiamo dunque concludere che il nostro caso — più per la concomitante lesione della pituitaria che per le alterazioni ossee riscontrate — sia da ritenere come *un caso di siringomielia* con lesione della pituitaria, senza manifestazioni acromegaliche.

Come dobbiamo ora noi interpretare la mancanza delle ricordate lesioni ossee acromegaliche — colla completa trasformazione adenomatosa della pituitaria? Come sappiamo, la maggior parte degli Autori (Tamburini (80), Comini (83), Pierre Marie (81), Marinesco (82), ecc.) è oggi inclinata ad ammettere che l'acromegalia sia sempre sostenuta da una lesione della pituitaria, qualunque essa sia — ed ammettono dipenda da un pervertimento di funzione della ghiandola stessa i cui elementi ghiandolari siano scomparsi o sostituiti da un altro ordine di elementi incapace di fornire la secrezione normale.

Non vogliamo ora nemmeno succintamente ricordare il gran

numero di ricerche sperimentali e di osservazioni cliniche indirizzate a sciogliere questo problema.

Contrariamente alla opinione generale sopraesposta, il nostro caso dimostrerebbe che non sempre la lesione completa della pituitaria sia necessariamente accompagnata al completo quadro anatomico della acromegalia. Volendo invece ammetterla, bisognerebbe pensare che gli elementi adenomatosi per sè stessi fossero capaci di una certa funzionalità, la quale in parte supplisse alla funzionalità ghiandolare normale.

Ma nel nostro caso l'adenoma nella pituitaria si accompagnava ad una siringomielia di origine gliomatosa.

In che rapporto stanno questi due processi? Noi possiamo ritenere che i due processi patogeneticamente si equivalgano.

Infatti embriologicamente ora è ritenuto che la pituitaría non sia che il cul di sacco superiore del canale centrale, e data questa parentela, mentre nel midollo spinale da germi aberranti di epitelio ependimale si è originato per attiva proliferazione cellulare il glioma diffuso, successivamente rammollito a dare la cavità siringomielitica, dall'epitelio ependimale della pituitaria si è originata la produzione adenomatosa. In tre casi simili al nostro invece Dallemagne (79), in cui si aveva lesione della pituitaria con ammassi cellulari nel canale centrale, ammette che per lesione dei centri nutritivi spinali, sarebbero messi in circolo residui anormali che porterebbero secondariamente disturbi nutritivi nel canale ependimale.

Nel nostro caso l'integrità nel canale centrale, per un bel tratto del midollo e la avanzata organizzazione della parete cavitaria ci fanno ritenere per fondata la nostra ipotesi e i due processi morbosi concomitanti e non dipendenti l'uno dall'altro.

Del resto da altri autori furono descritti adenomi della pituitaria — simili al nostro — da alcuni (Brigidi (84), Heurot (85), Marie e Marinesco (82). Tamburini (80), Sigurini e Coparlacco (86), Comini (83), Schultze e Jores (87)) accompagnati dalla classica deformità ossea

acromegalica, da altri (Loeb ed Arnold (88), Weigert (89), Eisenlohr (90), Weichschelbaum (91), Müller (92), Ribbert (93), Breitner (94), Sanson (95)) accompagnati da soli fenomeni di marasmo e di cachessia e questa differenza dipenderebbe, secondo Collina (96), dall'età dell'individuo colpito — che se giovane darebbe la forma acromegalica — se adulta la cachettica. In ogni modo possiamo asserire che l'adenoma non porta un'abolizione completa, ma solo una alterazione nelle funzionalità della ghiandola, la quale (e nel nostro caso i blocchi di sostanze ialine e colloide lo testificano) può ancora (secondo l'ipotesi di Haller (97) secernere il succo necessario alla normale nutrizione degli elementi nervosi.

Nel nostro caso infine l'esame istologico dei vasi ci permette di escludere che le alterazioni osteo-articolari siano in dipendenza di lesioni vascolari, come per l'acromegalia tendono oggi alcuni autori ad ammettere. Queste lesioni osteoarticolari invece, che si avvicinano tanto a quelle descritte nel primo caso, le dobbiamo riferire a lesione trofica per le profonde alterazioni dei centri trofici.

Pertanto dallo studio dei nostri due casi possiamo concludere:

I due casi di siringomielia descritti, per quanto si avvicinino nella natura della lesione primitiva spinale (processo gliomatoso originato da germi embrionali aberranti di epitelio ependimale e successivamente rammollito al centro) e nella natura delle lesioni secondarie ossee ed articolari, sensibilmente si differenziano per la sede e l'estensione di queste.

Così è che l'uno si può definire un « Caso di siringomielia a tipo Morvan » l'altro un « Caso di siringomielia con lesione della pituitaria senza manifestazioni acromegaliche ».

Le lesioni trofoneurotiche ossee ed articolari non sono specifiche, ma sono quali in altri processi fisiologici (senilità) o patologici (osteomalacia, ecc.) si possono osservare

e si differenziano da queste per il disordine col quale si manifestano.

In queste lesioni trofoneurotiche prevalgono i processi passivi (atrofia lacunare, decalcificazione, metaplasie fibrose e cartilaginee), mentre i processi attivi (osteofitosi, formazione del callo nelle fratture, ecc.) si svolgono solo incompletamente.

L'adenoma della pituitaria si può ritenere concomitante alla produzione gliomatosa spinale e patogeneticamente equivalente e per essere la pituitaria completamente adenomatosa, senza che le lesioni anatomiche riproducessero il processo classico acromegalico, si può ritenere, che la ghiandola adenomatosa possa conservare ancora una certa funzionalità.

Cagliari, Giugno 1900.

BIBLIOGRAFIA

1. A. Dionisi, *Riv. sper. di freniatria*, vol. XXV, fasc. I.
2. Leyden, *Virch. Arch.*, Bd. 68, S. 1.
3. Chiari, *Denkschriften der Wiener-Akademie*, Bd. 63, 1895.
4. Redlich, *Neurol. Centralb.*, 1896, 8, 614. — *Zeitsch. f. Heilk.*, XII.
5. Straub, *Arch. f. Klin. Med.*, 1895.
6. Hoffmann, *Deutsche Zeitsch. f. Nervenheil.*, Bd. 3, 1893, H. 3.
7. Miura, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XII, p. 91.
8. Weigert, *Abhand. d. Senkenbergischen Naturförschenden Gesellschaft*, 1895.
9. Brunner, *Miscell. nat. cur.*, Dec. III, Anno I.
10. Virchow, *Virchow's Arch.*, Bd. 27, 1863.
11. Lenossek, *Oester. Zeitschr. f. prakt. Heilk.* Wien, 1859, S. 58, I.
12. Joffroy, *Arch. de Méd. expér.*, 1895, n. 1.
13. Brissaud, *Revue neurologique*, 15 ott. 1894.
14. Dallemagne, *Arch. de Méd. expér.*, 1895, p. 600.
15. Schultze, *Berl. klin. Woch.*, n. 4, 1897.
16. Babes e Nanicantide, *Arch. des Sciences Méd.*, 1896, Mai 3.
17. Dufour, *Revue Neur.*, n. 3, 1898.

18. Rosenthal, *Ziegler's Beitr.*, XXIII, 1°.
19. Schlesinger, *Eine Monografie*, 1895.
20. Stroebe, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XVIII, 1896.
21. Korb, *Deut. Zeitsch. f. Nervenheilkunde*, VIII, Bd. 5-6.
22. Gerlach, *Deut. Zeitsch. f. Nervenheilkunde*, Heft IV e V, 1894.
23. Kaiser e Kirchenmeister, *Arch. f. Psych.*, Bd. XXV, H. 1, 1898.
24. Redlich, *Arch. Med. Vienne*, 1895.
25. Vassale, *Atti dell'VIII Congresso della Soc. fren. ital.*, Roma, 1894; Reggio Emilia, 1894.
26. Spiller, *The Journ. of Nervous and mental disease.* June 1896.
27. Saxer, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XX, 1896.
28. Hatschek, *Revue Neurologique*, 1896, 30 mai.
29. Schultze, *Deut. Zeitsch. f. Nervenheil.*, VIII, Bd. 1-2, 1898.
30. Thomas, *Revue médicale de la Suisse Romande*, 1895, n. 11.
31. Schlesinger, *Arbeit aus dem Obersteiner'schen Institute*, 1896.
32. Müller-Meder, *Revue neur.*, 1896, p. 144.
33. Wieting, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XIX, 1, 1896.
34. Oppenheim, *Arch. f. Psych.*, 1893.
35. Redlich, *Neur. Centralblatt*, 1896.
36. Hatschek, *Revue neurologique*, 1896, 30 mai.
37. Preobayenski, *Mém. méd.*, n. 12 e 14.
38. Saxer, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XX, 1896.
39. Alexandroff e Minor, *Revue neurologique*, 1896, p. 562.
40. Marinesco, *Revue neurologique*, 1895, p. 514.
41. Jaccoud, *Traité de Pathologie interne*, Paris.
42. Vizioli, *Tratt. it. di pat. spec. med.*, vol. II, p. III, p. 139.
43. Dimitroff, *Arch. f. Psych.*, Bd. XXVIII, 2, 1896.
44. E. Asmus, *Bibl. medica*, Abt. C. Heft 1, 1893.
45. Pellizzi, *Riv. di Freniatria*, 1892, p. 682.
46. Vichmann, *Centralbl. f. Klin. Med.*, 1887.
47. Cramer, Zusamm. Ref. *Centr. f. Path. Anat.*, Bd. III, 1892.
48. Schmaus, *Ergebnisse von Lubarsch*, 1896, 3 Abt., S. 760.
49. Saxer, *Centralbl. f. Path. Anat.*, 1898.
50. Schlesinger, *Eine Monografie*, 1895.
51. Hofmann, *Deut. Zeitschr. f. Nerv.*, 93, III.
52. Morpurgo, *Riv. sper. di fren.*, vol. XXIV, 1898.
53. Zenoni, *Il Morgagni*, n. 5, 1900.
54. Stroebe, *Ziegler's Beiträge*, Bd. XVIII, 1895.
55. Bucholtz, *Arch. f. Psych.*, Bd. XXII, 1891.
56. Boest, *Bericht über Arbeiten aus dem path. an. Inst. der Univ. Würzburg*, 1898.
57. Pokoloff, *Arch. f. Klin. Med.*, 1887.
58. Rosenthal, *Ziegler's Beiträge*, XXIII, 1898.
59. Fabris, *Arch. per le Scienze med.*, vol. XXIV, n. 5.
60. Kofend, *Wien. Klin. Wochen.*, 13, 1898.
61. Laese, *Deut. Med. Woch.*, 18, 1898.
62. Pokoloff, *Deut. Zeitschr. f. Chir.*, 51-55, 1899.
63. Kottwiackel, *Deut. Arch. f. Klin. Med.*, 62 Bd., 1899.

64. Bonome, *Sul riassorbimento normale e patologico del tessuto osseo*, Torino, Triverio, 1887.
65. Weir Mitschel, *Americ. Jour. of Med. sc.*, 1873, n. 113.
66. Charcot, *Arch. de Physiol.*, 1884.
67. Oulmont, *Progrès médical*, 1878, n. 28.
68. Hutchinson, *Brit. med. Journ.*, 1880.
69. Sturge, *Brit. med. Journ.*, 1880.
70. Westphal, *Berl. Klin. Woch.*, 1882, 11.
71. Bruns, *Berl. Klin. Woch.*, 1881, 11.
72. Gudden, *Arch. f. Psych.*, II, 1870.
73. Mercer, *Brit. med. Journ.*, 1874.
74. Bonnet, *Gaz. des Hop.*, 1876.
75. Schiff, *Compt. rend. d. S. de l'Acad. des Sciences*, t. XXXVIII.
76. Fischer, *Berl. Klin. Woch.*, 1881, 13.
77. Nasse, *Arch. f. d. ges. Phys. von Pflüger*.
78. Schultze e Iones, *Deut. Zeitsch. f. Nerv.*, Bd. 15, 1897.
79. Dellemagne, *Arch. de méd. expér.*, vol. VII, 5-93.
80. Tamburini, *Atti dell'XI Congr. Int. di Roma*, 1894.
81. Pierre Marie, *Revue de Méd.*, 1886. — *Progr. médical*, 1889.
82. Marie e Marinesco, *Arch. de méd. expér.*, 1891, n. 4.
83. Comini, *Arch. per le scienze med.*, 1896, n. 4.
84. Brigidi, *Atti della Soc. medica fisica fiorentina*, 1877.
85. Heurot, *Notes de clinique médicale*, Reims, 1888.
86. Sigurini e Coparlacco, *Riforma medica*, 1895, vol. II, p. 376.
87. Schultze e Jores, *Deut. Zeitsch. f. Nerv.*, 1899, Bd. XI, 1-2.
88. Loeb e Arnold, *Virch. Arch.*, Bd. III, H. 2-4.
89. Weigert, » » Bd. 65.
90. Eisenlhor, » » Bd. 68.
91. Weichschelbaum, » » Bd. 75.
92. Müller, *Jen. Zeitschr. f. Med. und Natur.*, Bd. VIII, H. 3.
93. Ribbert, *Virch. Arch.*, Bd. 90.
94. Breitner, » » Bd. 93.
95. Sanson, *Transaction of the path. soc.*, p. 379.
96. Collina, *Riv. sper. di fren.*, vol. XXIV, fasc. III-IV, 1898.
97. Haller, *Morphol. Jahrbuch*, Bd. XXV.

Spiegazione delle Figure.

TAVOLA I.

Fig. 1ª. — Arto destro ripulito dalle parti molli. — Mano ad artiglio. — Frattura spontanea al terzo inferiore dell'ulna con ingrossamento dei due monconi, e ingrossamento dei capi articolari al gomito.

Fig. 2ª. — Mano sinistra, corta e succulenta. — Scomparsa quasi completa dell'ultima falange delle dita con riduzione del letto ungueale e dell'unghia.

Fig. 3ª. — Clavicola destra deformata ad angolo con forte ingrossamento del suo terzo posteriore.

Fig. 4ª. — Scapola destra con ingrossamento della regione sottospinosa e del contorno nella cavità articolare dell'omero e della porzione laminare. Questa alla parte centrale è sottile, trasparente, pergamenacea.

Fig. 5ª. — Scapola sinistra con frattura spontanea al suo terzo inferiore.

Fig. 6ª-7ª. — Radio destro con neoproduzione peri ed endosteale.

Fig. 8ª-9ª. — Omero destro con lesioni della cartilagine articolare e assorbimento della sostanza spugnosa nei capi articolari.

TAVOLA II.

Fig. 1ª. — Cavità siringomielitica del 1° caso di siringomielia (Tipo Morvan).

a - **cavità siringomielitica;**
b - **produzione gliomatosa sottocavitaria;**
c - **produzione gliomatosa extracavitaria;**
1° - parte superiore della regione cervicale;
2°-3° - rigonfiamento cervicale;
4°-5°-6° - regione dorsale;
7°-8° - rigonfiamento lombare;
9° - cono terminale.

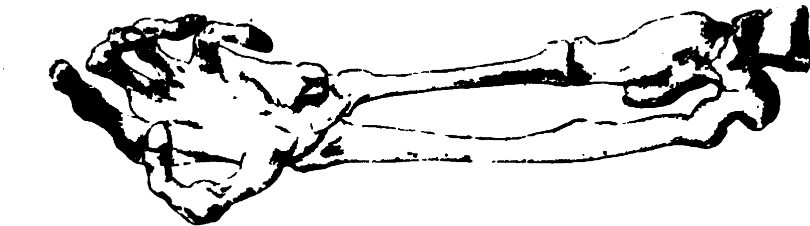
Fig. 2ª. — Cavità siringomielitica del secondo caso, con lesione della pituitaria.

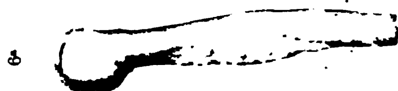
Fig. 3ª. — Adenoma della pituitaria.

a - **blocchi di sostanza colloide.**

Fig. 4ª. — Metaplasia fibrosa della cartilagine articolare di un corpo vertebrale (2° caso).

Fig. 5ª. — Metaplasia condroide del tessuto osseo compatto della punta della scapola (1° caso).











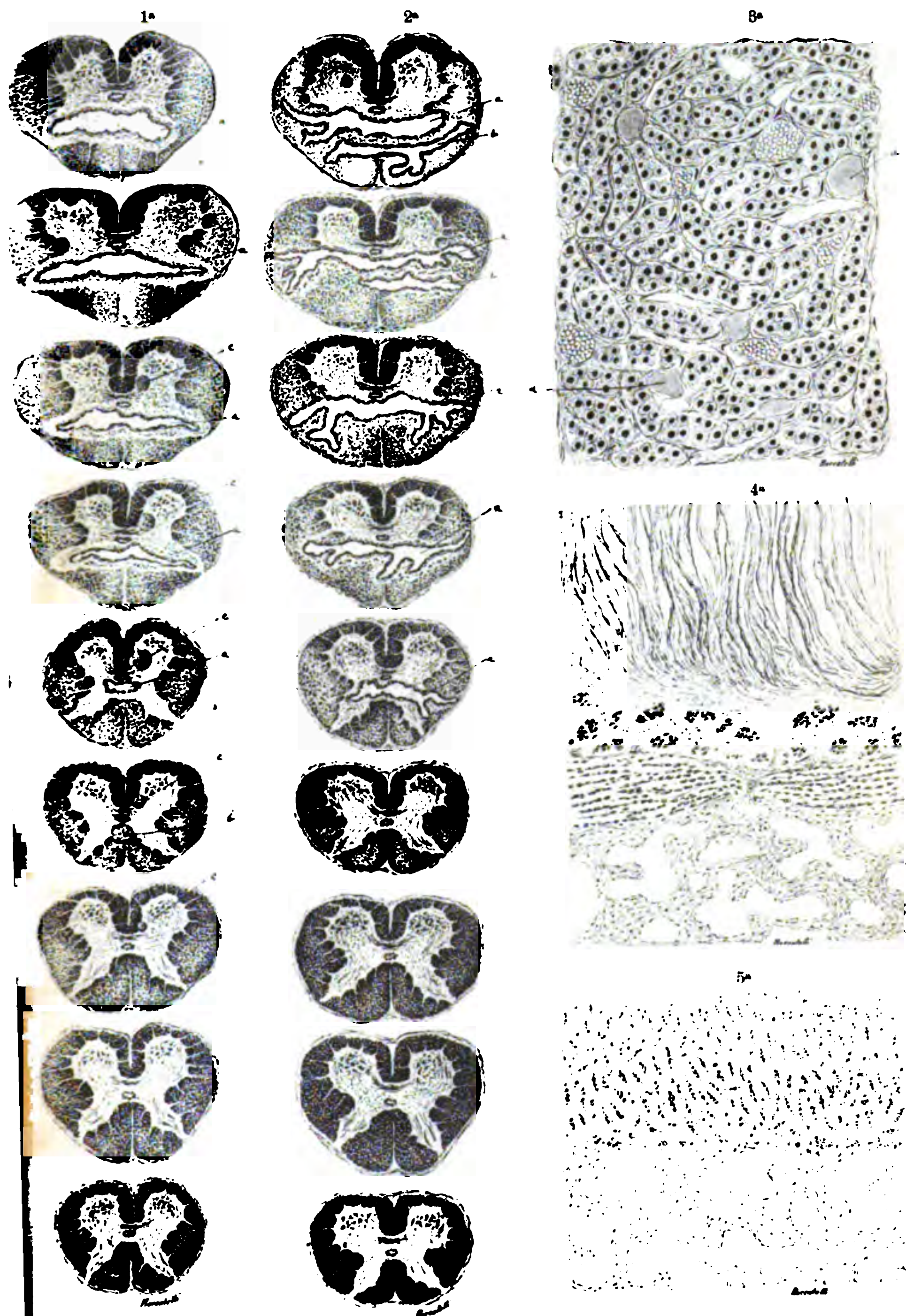








Eliotipia Molfese - Torino.



Eliotipia Molfese - Torino.

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XXIV. N. 21.

Istituto d'Anatomia Patologica di Torino,
diretto dal Prof. P. Foà.

DEL TRAPIANTO
DELLA CARTILAGINE INTEREPIFISARIA.
DELLA
SOSTITUZIONE DELLA CARTILAGINE INTEREPIFISARIA
CON CARTILAGINE ARTRODIALE D'INCROSTAZIONE

RICERCHE SPERIMENTALI (1)

DEL
Dott. **Alessandro ZOPPI**

(Tav. XIII e XIV)

Intorno all'argomento degli innesti di tessuti animali vi sono numerosissimi lavori, alcuni d'indole puramente biologica e sperimentale, altri d'indole clinica. Gli uni coll'intendimento di ricercare, qualora l'innesto attecchisca, l'attività proliferativa del tessuto innestato; gli altri per avere la dimostrazione se un organo o un tessuto, possa venire sostituito da un altro organo o tessuto, preso da altro corpo animale della stessa o di diversa specie.

Fu tentato l'innesto di tutti i tessuti dell'economia animale; anche degli innesti di cartilagine, di cui io mi sono specialmente occupato in questo lavoro, vi sono numerose ricerche da parte di parecchi scienziati.

(1) Questo lavoro fu comunicato in una nota preventiva alla R. Accademia di Medicina di Torino nella Seduta del 6 luglio 1900.

Per non far parola degli altri sperimentatori, citerò solo i risultati ottenuti dallo Zahn (1). Questo autore, innestando dei pezzetti di cartilagine adulta, nei più svariati organi e tessuti (connettivo sottocutaneo, testicolo, rene, camera anteriore dell'occhio, cresta del pollo, e nel lume della giugulare) ottenne sempre, costantemente, dei risultati negativi, perchè tali innesti, anzichè attecchire, subivano ben presto un processo di degenerazione. Quando invece l'A. innestava dei lembi di cartilagine embrionale, allora ne otteneva l'attecchimento. Ad esempio, avendo egli iniettato nella giugulare di un coniglio dei minutissimi frammenti di cartilagine embrionale omoplastica, in sospensione nel liquido amniotico, dopo vario tempo constatò che al punto di innesto, sulle pareti della vena, si erano sviluppati dei nodetti cartilaginei e rinvenne nel polmone stesso dei piccoli encondromi. Da questi fatti lo Zahn venne a conchiudere che l'attecchimento di un innesto, dipende precipuamente dal potere proliferativo del tessuto innestato, che per la cartilagine embrionale è senza paragone maggiore di quello della cartilagine adulta.

Ricordando queste esperienze, volli tentare l'innesto di una cartilagine, che, anche nella vita extrauterina, mantiene il tipo e le proprietà delle cartilagini embrionali, quale è la cartilagine interepifisaria, che per sua destinazione fisiologica, essendo adibita all'accrescimento in lunghezza delle ossa, si mantiene nello stato embrionale per tutto il tempo in cui perdura lo sviluppo dell'organismo.

Riferisco senz'altro i risultati delle mie esperienze di trapianto di cartilagine interepifisaria della epifisi superiore della tibia nei conigli.

Ho scelto dei giovani conigli, da uno a due mesi d'età, perchè in tali animali è questa l'epoca del massimo sviluppo dello scheletro; e feci oggetto delle mie ricerche la cartila-

(1) W. Zahn, « Sur le sort des tissus implantés dans l'organisme ». Congrès médical international de Genève, 1878.

Id., « Ueber das Schicksal der in der Organismus implantirten Gewebe » (*Virchow's Archiv f. pathologische Anatomie, etc.*, 95 B., 1884).

gine interepifisaria della epifisi superiore della tibia, per due ragioni: primo perchè, secondo l'opinione degli osteologi, è dovuto precipuamente ad essa lo sviluppo in lunghezza della tibia; in secondo luogo perchè, come si vedrà dalla tecnica da me seguìta, è fra tutte quella più facilmente aggredibile, ed asportabile, col minor danno dei tessuti ed organi circostanti.

Ho operato su una lunga serie di animali, parecchi dei quali mi diedero risultati soddisfacenti e assai dimostrativi. A tal uopo, immobilizzati su di un comune tavolo d'operazione due dei giovani conigli sopra detti, venne fatta una scrupolosa pulizia del campo operativo, in corrispondenza dell'articolazione del ginocchio destro. Ho operato sempre sulla tibia destra, lasciando intatta la sinistra, per avere un termine di confronto fisso, così per gli esami istologici praticati dopo l'innesto, come per la differenza in lunghezza tra le due tibie nelle diverse epoche dall'operazione. I peli della parte venivano tagliati delicatamente con le forbici e la disinfezione veniva fatta prima con acqua e sapone, poi con alcool e sublimato all' 1 $^{0}/_{00}$. Incidevo la pelle per la lunghezza di 3 cm. longitudinalmente, per modo che la metà del taglio corrispondesse all'inserzione del tendine rotuleo alla cresta della tibia. Messa allo scoperto questa, staccavo il tendine, e, inciso il periostio in corrispondenza di quella linea bluastra che demarca la cartilagine interepifisaria, scollavo delicatamente il muscolo tibiale anteriore dal lato esterno della tibia, e trovata l'inserzione del tendine del muscolo bicipite femorale, mentre un assistente teneva divaricati il tendine e il muscolo dall'osso, con opportuni maneggi provocavo il distacco dell'epifisi. Spesse volte questo veniva prodotto dal dibattersi dell'animale subito dopo tagliato il tendine rotuleo e divaricati i muscoli sopradetti. Il distacco epifisario, come ho potuto dimostrare in una serie di ricerche sperimentali da me eseguite (1), avviene in questi

(1) A. Zoppi, « Del processo intimo di guarigione del distacco epifisario ». Ricerche sperimentali. Comunicazione fatta alla R. Accademia di Torino, 6 luglio 1900.

animali costantemente in un punto della cartilagine interepifisaria, il qual fatto non è ammesso dalla maggior parte degli sperimentatori. Questo punto è situato entro alla cartilagine *a colonne*, là dove le capsule cartilaginee sono considerevolmente dilatate ed i nuclei delle cellule contenutevi si sono pur visibilmente ingrossati, con una scarsa sostanza cromatica raccolta ad accumuli alla periferia del nucleo. Infatti nel preparato istologico si osserva che la cartilagine interepifisaria resta quasi in totalità aderente all'epifisi, mentre dal lato diafisario restano soltanto le basi delle colonne (zona di calcificazione).

Ottenuto adunque in tal modo il distacco cruento dell'epifisi superiore della tibia, con un sottile cheratotomo incidevo un mm. circa verso l'epifisi, e mi avveniva così di escidere la cartilagine interepifisaria tutta intera, approfondendo il taglio per tutto lo spessore dell'osso; della qual cosa mi convincevo facilmente avendo incontrate col tagliente le trabeccole ossee dell'epifisi. Il disco escisso lo deponevo in una capsula con soluzione fisiologica sterilizzata, mantenuta alla temperatura di 38° gradi. Con un cucchiaino di Volkmann da otojatria raschiavo la porzione di cartilagine che restava aderente alla diafisi. La stessa operazione, eseguita su questo primo coniglio, veniva ripetuta sopra l'altro, già preparato allo stesso scopo. Il disco cartilagineo, messo prima nella soluzione fisiologica, lo collocavo nel punto da cui avevo tolta la cartilagine al secondo coniglio, la cartilagine del quale veniva messa a suo posto nel primo. Avveniva così uno scambio nelle due cartigini, avendo sempre avuta l'avvertenza di collocarle, rispetto all'osso, nei loro rispettivi rapporti.

Con un robusto punto di sutura univo il tendine rotuleo alla cresta della tibia e con altri due punti il periostio tagliato. I muscoli tornavano spontaneamente al loro posto e veniva suturata la cute. La ferita veniva medicata al collodio. Applicavo un leggiero apparecchio amidato per mantenere l'arto operato con la gamba flessa sulla coscia e questa sul bacino, cioè, nella posizione che conserva abitualmente l'ani-

male nello stato di riposo. Questo apparecchio veniva tolto dopo due o tre giorni dall'operazione, e si vedeva che il coniglio, anche dopo un così breve tempo, poteva servirsi dell'arto operato quasi come di quello sano. Ciò dipendeva, com'è chiaro, dalla tecnica usata, che, rispettando muscoli e nervi, non ne ledeva la funzionalità. Il perone illeso faceva le veci della ferula nell'apparecchio di frattura. L'operazione non è facile e deve essere condotta con le più scrupolose cautele della asepsi chirurgica.

La prima serie dei conigli operati venne sacrificata dopo otto giorni dall'atto operativo; i pezzi venivano fissati specialmente nel liquido di Müller o nella serie degli alcool. Per la decalcificazione ho impiegato una soluzione satura di NaCl col 5 °/₀ di HCl, che, per mia esperienza, mi diede migliori risultati della *Fluoroglucina* tanto vantata da alcuni autori. I pezzi così decalcificati venivano inclusi sempre nella celloidina e coloriti con i soliti metodi della tecnica istologica.

Nell'osservazione microscopica dei preparati così ottenuti, nel punto della lesione periostale, e precisamente nello strato osteogenico del periostio, si nota, oltre ad alcuni focolai di infiltrazione di leucociti, anche una certa proliferazione delle cellule fisse, il che va a costituire un assai tenue callo esterno. Nella sede poi dell'innesto, si osserva che la cartilagine trapiantata è attecchita perfettamente. Infatti si ha una prova che la vitalità dei suoi elementi non è per nulla alterata dal fatto che essi assumono completamente le colorazioni comuni. Si vede poi che la cartilagine innestata ha proliferato nella sua parte contigua alla diafisi formando delle colonne di cellule cartilaginee in continuazione alle preesistenti a mo' di *gettoni* o di *propaggini* di 4, 6 e più elementi, che s'internano nella compagine della diafisi dentro agli spazî midollari (Vedi Fig. 1).

Nei preparati ottenuti dopo 10 giorni dall'operazione si vede chiaramente che la cartilagine interepifisaria innestata ha preso intimi rapporti anche dal lato della diafisi della tibia, il cui limite, rispetto all'osso, si è fatto più regolare.

Il numero dei *gettoni* o *propaggini* di cellule cartilaginee è visibilmente diminuito; sono più brevi per lo scarso numero dei loro elementi; insomma questo punto di passaggio, tra la cartilagine innestata e l'osso, va sempre più assomigliando a un preparato normale.

In alcuni preparati la cartilagine si presenta un po' irregolare nella distribuzione delle sue cellule, il che è da mettersi in rapporto con i maltrattamenti inevitabili subìti nei maneggi operativi. Ad esempio, tra una colonna e l'altra di cellule cartilaginee si nota una distanza doppia o tripla di quello che dovrebbe essere in via normale. Tale lacuna è occupata da sostanza fondamentale, che appare perfettamente normale.

Nei preparati di 15 giorni si osservano presso a poco le stesse cose che si sono dianzi descritte: la cartilagine innestata mantiene la sua vitalità, *le propaggini* di cellule cartilaginee sono ancora diminuite, tanto che solo dopo lungo esame si può riscontrarne qualcuna.

Nel punto di passaggio tra la cartilagine e l'osso della diafisi si trova qualche trabeccola ossea neoformata, che accenna non essere spenta l'attività proliferativa della cartilagine interepifisaria innestata.

Questo fatto è reso con mirabile evidenza (Fig. 2ª), nei preparati ottenuti dopo un mese dall'innesto, nei quali si osserva, a piccolo ingrandimento, che nell'osso spugnoso della estremità della diafisi, vi è come una linea abbastanza regolare, data questa dal passaggio dalle trabeccole ossee antiche a quelle formate dalla nuova cartilagine, che appariscono più esili e in via di calcificazione. Mi diedero, per dimostrar questo fatto, un ottimo risultato la colorazione di Klaatsch e quella di Van Geison (1).

In questi preparati si ha la spiegazione istologica dell'accrescimento in lunghezza che si ha nella tibia, dopo il tra-

(1) I migliori preparati gli ottenni con una modificazione di questo metodo. Invece di sciogliere la fuxina acida in semplice acqua distillata, ho impiegato dell'acqua impregnata d'olio di anilina.

pianto di una cartilagine interepifisaria omoplastica. Infatti in questi preparati di un mese e più dal trapianto si osserva che vi è stato, per un certo tratto di tempo, un arresto nello sviluppo dell'osso, il che deve essere certamente in rapporto col tempo impiegato dalla cartilagine trapiantata per attecchire e contrarre relazione biologica coi tessuti circostanti. Ho potuto constatare che, anche dopo due o tre mesi dall'innesto, la differenza in lunghezza tra le due tibie non è mai superiore ad un mm., mentre invece in quegli animali in cui ho estirpato la cartilagine interepifisaria senz'altro innesto, ho visto che la differenza tra le due tibie aveva raggiunto in un mese 6 mm. Le misure delle ossa vennero prese accuratámente con un comune compasso di spessore.

Nei preparati ottenuti da due conigli operati di trapianto della cartilagine interepifisaria e lasciati vivere fino al 6° mese di età, epoca in cui questa specie d'animali ha raggiunto il massimo dello sviluppo scheletrico, ho potuto osservare che la cartilagine innestata, dopo aver funzionato allo stesso modo dell'altra illesa, va a poco a poco scomparendo, le colonne di cellule cartilaginee sono ridotte di due o tre elementi, fino a scomparire del tutto e confondersi in un tessuto omogeneo, che è la così detta *cicatrice* della cartilagine interepifisaria; insomma la cartilagine innestata si comporta fisiologicamente allo stesso modo di una cartilagine normale.

Del trapianto di cartilagine interepifisaria eteroplastica.

Ottenuti questi risultati, che invero sono assai confortanti, ho voluto tentare alcuni innesti eteroplastici della stessa cartilagine interepifisaria. Scelsi a tal uopo animali di specie assai diversa: il coniglio ed il cane. Ho operato prima due giovani conigli di un mese e mezzo circa d'età. Con l'istessa tecnica indicata più sopra, ho escisso le cartilagini interepifisarie delle due tibie di destra; indi ho ucciso un cagnolino

lattante, ho escissa la cartilagine interepifisaria dalle due tibie e l'ho trapiantata nelle tibie dei due coniglietti. Le medicature e gli apparecchi protettivi furono applicati come fu esposto parlando delle esperienze della prima serie. Le ferite guarirono senza alcuna complicazione.

Dopo 22 giorni dall'operazione ho ammazzato uno dei due coniglietti e riscontrai subito che la differenza fra le due tibie era già di 2 mm.

I pezzi per l'indagine istologica furono fissati nel liquido di Müller e colorati coi metodi più sopra indicati.

Nei tagli da essi ottenuti, che riuscirono assai dimostrativi (Fig. III) ho potuto constatare con la massima evidenza la morte della cartilagine di cane trapiantata, cioè l'esito assolutamente negativo del trapianto. Gli elementi della cartilagine innestata non si colorano più, o assai debolmente, per modo da intravvedersi indecisamente le colonne delle cellule cartilaginee. Osservando poi il preparato a diaframma pressochè chiuso, si vede la sostanza fondamentale formante gli intercolonnî e i sepimenti delle cavità cartilaginee, come leggermente punteggiata, il che dimostra uno stato regressivo della cartilagine, che a poco a poco verrà assorbita. Numerosi leucociti circondano la cartilagine morta e gli elementi fissi fusiformi del tessuto connettivo circostante s'insinuano negli spazî intercolonnarî e riempiono le cavità cartilaginee vuote, fino a compenetrare in qualche punto tutta la cartilagine innestata. In qualche punto della cartilagine in cui le cavità cartilaginee contengono ancora la cellula, questa appare tutta punteggiata e specie il nucleo in perfetta cromatolisi.

Nei preparati ottenuti dall'altro coniglio operato allo stesso modo, ma sacrificato dopo 50 giorni dall'operazione, si osservano questi fatti che ho or ora esposto; ma, come è evidente, in un grado ben più accentuato.

In alcuni punti del preparato è del tutto scomparsa la cartilagine innestata e si intravvede qua e là in mezzo ad un connettivo giovane apparire come le *ombre* delle cavità cartilaginee preesistenti.

È chiaro quindi, per quello che son venuto esponendo, che l'innesto eteroplastico di cartilagine interepifisaria dà sempre risultato negativo, cosa che di certo non si deve attribuire nè ad errori di tecnica operativa, nè ad altra complicazione post-operatoria; ma bensì ci dimostra l'influenza che l'ambiente organico esercita sull'organo innestato indipendentemente dalla virtù proliferativa dell'organo stesso.

Da questi ultimi esperimenti ho avuto la luminosa conferma di quanto è venuto a concludere l'Ollier (1) sull'aumento di compenso prodotto nelle ossa lunghe dalla cartilagine diartrodiale d'incrostazione, dopo l'ablazione della cartilagine interepifisaria.

Infatti nei miei preparati ottenuti dal coniglio ucciso dopo 50 giorni dal trapianto della cartilagine interepifisaria di cane, innesto che sortì, come si è detto, un esito negativo, si osserva che la cartilagine innestata o, per meglio dire, quel poco che vi è rimasto, segna nella diafisi della tibia una linea che non è la posizione normale topografica della cartilagine interepifisaria, ma di 2 mm. e $^1/_2$ più in basso, mentre, al momento del trapianto, essa ne occupava la vera posizione. Ora come si deve interpretare questo fatto? La cartilagine innestata è morta senza punto funzionare ed è rimasta compenetrata dal connettivo giovane circostante al punto dove essa fu collocata nel trapianto; quindi si deve necessariamente ammettere che lo sviluppo compensativo della epifisi sia dovuto alla sola cartilagine d'incrostazione. Questa però non arriva mai a compensare totalmente la mancata funzione della cartilagine interepifisaria essendovi la differenza di 4 mm. rispetto alla tibia sinistra mantenuta come termine di confronto.

Questa deduzione ha poi la sua conferma istologica nel fatto che in questi casi ho constatato una iperplasia tale della cartilagine d'incrostazione da raggiungere quasi uno spessore

(1) « Nouvelles expériences sur l'accroissement des os longs etc. » (*Compt. rend. de l'Acad. Sc. de Paris*, 1889, CVIII, 912-936).

doppio della norma e che i suoi elementi degli strati più vicini all'osso hanno assunto una disposizione a pile, il che dinota un processo di ossificazione encondrale.

Avevo già terminati gli esperimenti riguardanti questa prima parte del mio lavoro, quando venni a conoscenza della comunicazione fatta dal Prof. Helferich (1) al XXIII Congresso di Chirurgia su di un argomento, che a prima vista appare identico a quello da me trattato. Però dal lavoro in esteso completato dalle osservazioni istologiche del Dott. Enderlen (2), ho visto che un tale lavoro differisce essenzialmente dal mio. In primo luogo gli AA. citati non hanno studiato un vero e proprio trapianto della cartilagine interepifisaria; ma, operando essi sull'epifisi superiore del radio nei conigli, hanno praticato una doppia resezione del detto osso, comprendendo un tratto di epifisi e di diafisi di qualche millimetro, in cui necessariamente sta compresa la cartilagine interepifisaria: insomma non venne da loro fatto un vero innesto di cartilagine; ma d'un pezzo d'osso, col periostio compreso, in cui ha sede la cartilagine interepifisaria. In secondo luogo gli AA. citati non presero a considérare che un caso speciale di innesto *autoplastico* (3), in cui l'organo che veniva trapiantato non era trasportato in un'altra parte dell'organismo; ma dopo escisso veniva rimesso nella sua normale posizione topografica. Infatti il pezzetto di radio estirpato nel modo anzi detto veniva riposto donde era stato tolto. Infine essi non rendono conto di alcun tentativo di innesto *eteroplastico*. Come si vede adunque l'argomento fu svolto da me più completamente in ogni sua parte.

Inoltre, prescindendo da una qualunque importanza pratica

---

(1) « Versuche über die Transplantation des Intermediärknorpels wachsender Röhrenknochen » (*Deutsche Zeitsch. f. Chirurgie*, LI B., 5 u. 6 H.).

(2) « Zur Remplantation des reseärten Intermediärknorpels beim Kaninchen » (*Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie*, LI B., 5 u. 6 H.).

(1) Per la terminologia m'attengo a quella proposta da C. Foà nel suo recente lavoro: « Innesto delle ovaie in rapporto con alcune questioni di Biologia generale » (*Rivista delle Scienze biolog.*, n. 6-7. vol. II, 1900).

che si possa trarre da queste esperienze, esse dànno, a mio avviso, un certo contributo alla questione importante di biologia generale che riguarda l'innesto dei tessuti.

Della sostituzione della cartilagine interepifisaria con cartilagine articolare d'incrostazione.

Ricordando gli esperimenti dello Zahn (1) intorno agli innesti di cartilagine adulta nei più svariati tessuti (connettivo sottocutaneo, testicolo, cresta del pollo, ecc.) che hanno sempre avuto risultati negativi, mi venne in mente di tentare il trapianto della cartilagine articolare d'incrostazione adulta in un terreno più adatto al suo sviluppo, cioè nel punto, tra diafisi ed epifisi, donde avevo tolto la cartilagine interepifisaria.

Scelsi per animali di esperimento dei conigli simili a quelli adoperati per le altre mie esperienze. Come campo d'operazione ho preso l'epifisi superiore della tibia destra per le ragioni sopra esposte. Ho operato quindi dieci conigli, ho escissa con la solita tecnica la cartilagine interepifisaria e vi ho innestato della cartilagine d'incrostazione tolta dalla testa dell'omero o dal capo inferiore del femore di conigli della stessa età uccisi a tal uopo e da cui avevo raschiato col taglio di un coltello la membrana sinoviale che viene a costituire il pericondrio. Gli animali furono abbattuti successivamente in epoche diverse. I pezzi da esaminare furono fissati, decalcificati, ecc. coi metodi già noti. I preparati che ne ottenni, dagli animali uccisi dai due ai quattro giorni dall'operazione, mi diedero il seguente reperto istologico: il pezzo di cartilagine innestata appare nel punto in cui fu posta, a sostituire, cioè la cartilagine interepifisaria estirpata. I suoi elementi si colorano intensamente colle varie sostanze coloranti della

(1) Zahn, « Sur le sort des tissus implantés dans l'organisme » (*Congr. Méd. Intern. de Genève*, 1878). — « Ueber das Schicksal der in den Organismus implantirten Gewebe ».

tecnica istologica, da cui se ne deduce la vitalità perfetta. Solo alcune cellule cartilaginee della periferia del lembo sono disfatte e mortificate, cosa che si deve mettere in rapporto col trauma operativo sia dell'escissione, sia del raschiamento del pericondrio.

Attorno al pezzo innestato si trovano varî elementi di natura assai diversa, come globuli rossi del sangue in via di disfacimento e numerosi leucociti (fagociti), inoltre i varî elementi costituenti il midollo osseo.

Nei preparati ottenuti dopo 5 o 6 giorni dall'operazione, si osserva che il pezzo innestato assume perfettamente le varie colorazioni ed i suoi elementi non accennano punto a mortificarsi. I leucociti circondano numerosi il pezzo innestato intorno a cui si vanno a formare dei fasci di connettivo giovane.

Dopo 7, 8 giorni si vede il pezzo innestato che si mantiene vivo e nuove trabeccole rosse che si avanzano dal tessuto osseo circostante ed in mezzo ad un connettivo giovane neoformato vanno accostandosi alla cartilagine d'incrostazione trapiantata.

Negli altri miei preparati ottenuti dopo 10, 15, 20, 30 giorni non ho riscontrato fatti di speciale importanza, salvo che la vitalità perfetta dell'innesto, riconosciuta per il reagire dei suoi elementi alle sostanze coloranti.

In alcuni preparati ebbi a notare la parziale ossificazione della cartilagine, il che avveniva regolarmente alla periferia del lembo.

Un fatto interessante e degno di nota ho verificato in uno dei miei preparati ottenuti da un coniglio che fu ucciso dopo 60 giorni dall'operazione, in cui avevo innestato un lembetto di cartilagine d'incrostazione tolto dall'epifisi inferiore del femore di un coniglio di 3 mesi ucciso un istante prima. Macroscopicamente la testa della tibia appariva deformata, l'osso era di 8 mm. più corto dell'altro, ed al lato esterno si vedeva la testa del perone sporgente fuori dell'articolazione, fatto che si deve attribuire all'aver lasciata intatta la cartilagine interepifisaria di detto osso, che quindi è cresciuto normalmente. Nei tagli istologici si osserva che il lembo innestato

è cresciuto più del triplo del suo volume primitivo. Alla periferia si nota che vi è uno stretto rapporto tra le trabecoole ossee circostanti ed il pezzo innestato, tanto che parecchie di queste vanno a compenetrare la compagine della cartilagine innestata. Nei tagli fatti in serie di questo pezzo interessante ho rilevato una cosa assai notevole, cioè, che nella sua parte centrale s'è andato di mano in mano formando del tessuto osseo vero e proprio, con trabecoole in parte calcificate ed in parte no, tappezzate da osteoblasti a mo' d'un epitelio che chiudono delle cavità midollari primitive. Insomma è avvenuto in questo pezzo di cartilagine innestato quello che suole avvenire quando nell'epifisi fetale s'inizia il centro di ossificazione.

In un' altra serie di esperienze su questo stesso argomento, ho fatto, nel modo anzi detto, degli innesti di cartilagine articolare di coniglio vecchio sopra dei soliti conigli di un mese e $^1/_2$ circa. Mi venne allora questo pensiero dall'obbiezione che mi facevo: se ho ottenuto dei risultati positivi innestando dei lembi di cartilagine articolare di individuo giovane, poteva questo attribuirsi al fatto che nell'individuo, in via di sviluppo, anche la cartilagine è dotata di un grande potere proliferativo e quindi essere l'attecchimento in rapporto anzi che all'ambiente, in cui veniva posto il pezzo di cartilagine, al potere proliferativo del pezzo innestato. Quindi ho sostituito alla cartilagine interepifisaria destra di due giovani conigli, la cartilagine articolare, privata del pericondrio, tolta all'epifisi inferiore del femore di un vecchio coniglio di due anni e più d'età.

Ma anche nei preparati ottenuti da questi 2 conigli, uno ucciso dopo 6, un altro dopo 12 giorni dall'operazione, non constatai niente di differente da quello già esposto nella prima serie di queste esperienze, cioè, ebbi un risultato positivo dell'innesto.

Da queste esperienze viene dimostrata la grande importanza dell'ambiente circostante sull'organo innestato: infatti, in altra epoca, avendo io ripetute le esperienze dello Zahn (l. c.), relative alla cartilagine, ho ottenuto sempre anch'io risultati

negativi, anche negli innesti *autoplastici;* per parecchie volte ho innestato nei bargiglioni dei polli dei lembetti di cartilagine d'incrostazione, che avevo prima tolti dall'omero appena disarticolato degli stessi animali.

Nei preparati istologici appariva la cartilagine innestata circondata da un tessuto di granulazione con cellule fusiformi e la cartilagine con la sostanza fondamentale non omogenea, ma ridotta a strie e punteggiature, le cavità cartilaginee o vuote, o contenenti una cellula con protoplasma ridotto, ed il nucleo incolore in cromatolisi.

Dai fatti esposti in questo lavoro si può venire alle seguenti conclusioni:

I. — Che è possibile un trapianto di cartilagine interepifisaria da un animale all'altro della stessa specie e che, non perdendo essa affatto le sue proprietà fisiologiche, dà luogo a neoformazione ossea, avendosi così il normale allungamento dell'osso.

II. — Che gli innesti eteroplastici di cartilagine interepifisaria non attecchiscono e vengono a poco a poco riassorbiti.

III. — Che infine la cartilagine articolare adulta non attecchisce qualora non la si innesti in un ambiente favorevole, cioè là dove s'è tolta tutta od in parte la cartilagine interepifisaria, venendo così ad affermare il fatto che l'attecchimento di un innesto non dipende solo dalla maggiore o minore vitalità di questo, quanto dai tessuti con cui viene messo in rapporto.

CONSIDERAZIONI.

È chiaro che l'attecchimento della cartilagine interepifisaria in animali della stessa specie debba avvenire, date le proprietà embrionali di questa cartilagine. Però il risultato negativo dei trapianti eteroplastici dimostra all'evidenza l'importanza grande che ha nell'innesto l'ambiente organico, che circonda

l'organo innestato. A confermare vie più questo fatto vengono i risultati delle altre mie esperienze sull'attecchimento degli innesti di cartilagine d'incrostazione, anche di individuo adulto, al posto della cartilagine interepifisaria di animali giovani della stessa specie. A prima vista questi risultati sembrerebbero contrarî a quelli ottenuti dallo Zahn; ma si osservi che il citato autore trapiantava dei pezzetti di cartilagine nel parenchima di organi e di tessuti d'altra natura; mentre io, come s'è detto, ho sempre innestato la cartilagine nel suo ambiente naturale. Si sa, inoltre, dalle esperienze del Ribbert che nessun organo o tessuto adulto attecchisce, se viene innestato nella compagine di un tessuto di natura diversa. Si vede dunque da queste mie esperienze, come l'attività proliferativa di un tessuto non sia la sola condizione perchè esso negli innesti attecchisca; ma come la natura del tessuto, in grembo al quale vien fatto il trapianto, sia un altro importantissimo fattore del buon esito dell'innesto.

Questo è un modesto contributo che ho tentato di dare all'importante quesito di biologia generale, che è quello degli innesti dei tessuti.

Ed ora sento il dovere di ringraziare l'illustre mio Maestro Prof. Foà, che, accordandomi cortese ospitalità nel laboratorio da lui diretto, mi fu sempre largo d'aiuto e di consiglio.

Spiegazione delle Figure.

Fig. 1ª. — Sezione longitudinale dell'epifisi superiore della tibia destra di un coniglio di mesi 1 ½ operato di estirpazione della cartilagine interepifisaria e trapianto di un'altra cartilagine interepifisaria omoplastica dopo 8 giorni dall'innesto.

a - trabeccole ossee dell'epifisi;

b - cartilagine interepifisaria innestata;

c - gettoni o propaggini di cellule cartilaginee che s'insinuano nella diafisi.

Fig. 2ª. — Sezione longitudinale dell'epifisi superiore della tibia destra di un coniglio di mesi 2, dopo 15 giorni dall'innesto di una cartilagine interepifisaria omoplastica;

a - cartilagine interepifisaria innestata;

b - trabeccole ossee recenti, formate dopo l'innesto della cartilagine;

c - vecchie trabeccole della diafisi.

Fig. 3ª. — Sezione longitudinale dell'epifisi superiore di tibia di un coniglio di mesi 2, dopo 22 giorni dall'innesto di una cartilagine interepifisaria di giovane cane.

a - cartilagine innestata mortificata;

b - tessuto connettivo giovane, che va ad infiltrare la cartilagine morta.

Fig. 4ª. — Sezione longitudinale dell'epifisi superiore di tibia di un coniglio di mesi 4 circa, dopo 60 giorni dalla sostituzione di una cartilagine d'incrostazione alla cartilagine interepifisaria estirpata.

a' - cartilagine d'incrostazione innestata;

b - nuovo centro d'ossificazione che si è andato formando nel mezzo della cartilagine innestata.

Fig. I.

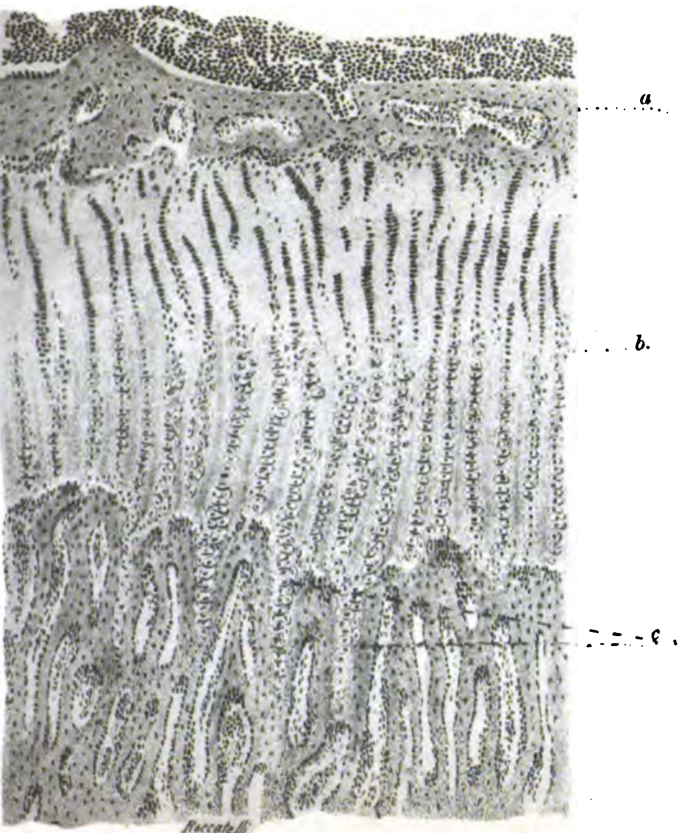
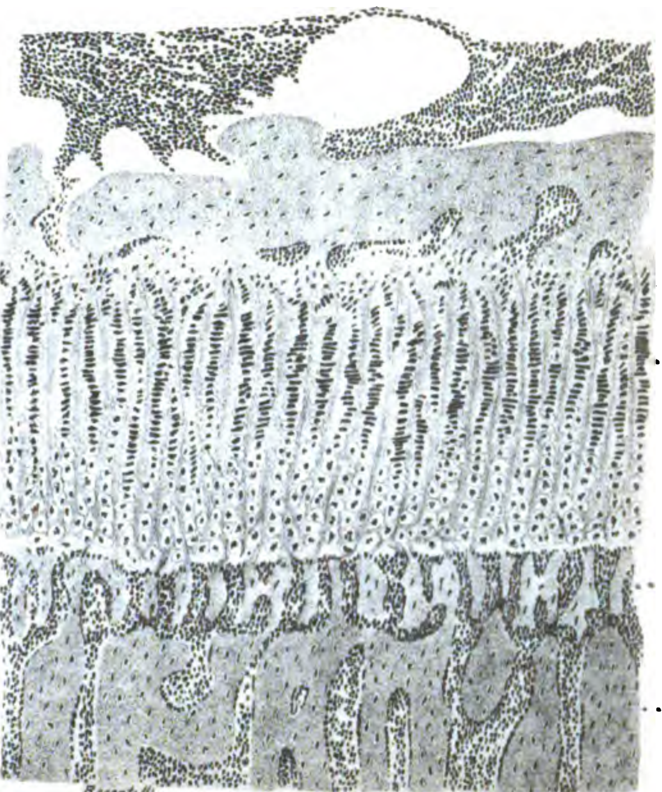


Fig. II.



Eliotipia Molfese - Torino.

a b a'

Fig. IV.



Fig. III.

Eliotipia Molfese - Torino.

Istituto di Anatomia patologica di Torino.

CONTRIBUZIONE ANATOMICA E SPERIMENTALE

ALLA

PATOLOGIA DELLE CAPSULE SURRENALI

DEL

Prof. **Pio FOÀ**

SUNTO DELL'AUTORE

In questi ultimi tempi ho avuto occasione di esaminare due casi di emocromatosi diffusa, con lesioni viscerali molto importanti.

Il primo si riferiva ad un uomo di 50 anni che presentava una estesa pigmentazione bruna della pelle senza manifesta pigmentazione della mucosa orale, e morì emiplegico per rammollimento bianco del cervello da endoarterite obliterante.

Presentava, inoltre, una cicatrice stellata nel lobo superiore del polmone sinistro, e una gomma all'apice del polmone destro. Il cuore assai bruno, ma di volume quasi normale. Eravi anche una cicatrice stellata nel rene di destra e una riduzione generale nel volume di ambo i reni, una perisplenite e una periepatite croniche, con tumefazione della milza e riduzione del fegato che era granuloso e gravemente cirrotico. Idrope ascite e pigmentazione generale di tutti i visceri addominali, dell'intestino, del peritoneo e delle ghiandole linfatiche. Leggera atrofia del pancreas; atrofia considerevole delle capsule surrenali, le quali erano non più grosse di un

grano di zea-mais. Nel fegato cirrotico, nel pancreas, nella milza, nel midollo delle coste, nei gangli linfatici si è trovato un fortissimo accumulo di cellule sovracariche di frammenti di globuli rossi o di blocchi di pigmento contenente ferro, di colore giallo bruno, ora grossolani, ora a minutissimi granuli. Questi non erano solo nel connettivo interstiziale ma anche nelle cellule parenchimatose di tutti gli organi suddetti. Le cellule muscolari del cuore erano tutte gremite di granulazioni pigmentali. Nelle capsule surrenali straordinariamente atrofiche si è trovato un accumulo grande di minute granulazioni pigmentali giallo-brune, nel protoplasma degli elementi costituenti la zona glomerulosa, di cui era difficile vedere il nucleo, e lungo i sottili vasi sanguigni. Il soggetto era evidentemente sifilitico, e non fu mai diabetico; la cirrosi attualmente atrofica era stata preceduta da un periodo di ipertrofia. Nei reni eravi una leggera infiammazione parenchimatosa.

L'altro caso si riferisce ad un uomo di 42 anni; con larghe macchie di pigmentazione cutanea sul tronco e sugli arti. Era stato poliurico e probabilmente glicosurico, ma essendo stato portato moribondo all'ospedale non si potè fare che l'esame di qualche goccia di orina rimasto in vescica, dopo morte, e questa non conteneva zucchero, come può seguire negli ultimi giorni anche nei diabetici.

Eravi un pacco di ghiandole linfatiche ingrossate nella regione sopraclavicolare, il cuore era atrofico e bruno. Perisplenite cronica adesiva con milza grossa consistente; la polpa era cosparsa di numerose macchie scure di apparenza emorragica. I reni leggermente granulosi con art. emulgenti alquanto rigide. Pancreas molle intensamente colorato in rosso bruno; così erano pure le ghiandole salivari. Le ghiandole linfatiche della regione sopraclavicolare, del mediastino e della regione lombare erano grosse, molli e rugginose e di aspetto neoplastico; la tiroide piccola non presentava che un piccolo nodo calcificato; le anse intestinali e il peritoneo intensamente granuloso.

Il fegato pesava 2900 gr. assai voluminoso, intensamente

granuloso di colore ruggine, assai duro. Alla superficie del taglio presentava nello spessore e verso il centro un'area larga 8 centimetri a contorni irregolari, glabra, dura di colore grigio chiaro. Al microscopio si nota una intensa epatite interstiziale, in cui il connettivo interlobulare sclerosato è gremito di cellule contenenti frammenti irregolari di globuli rossi e di pigmento ferruginoso giallo-bruno. Una forte pigmentazione vi è pure nelle pareti vasali, e cumuli di pigmento si trovano nel lume dei vasi.

In corrispondenza dell'area grigio-chiara il tessuto epatico è sostituito da elementi cancerosi i quali in parte si dispongono come se il tessuto fosse costituito da un intreccio di cordoni o di tubi ramificati. Vi sono lobuli in cui apparisce molto evidente il passaggio diretto della cellula epatica in cellula cancerosa. Il pigmento è sovratutto nel connettivo interstiziale e nei lobuli non convertiti in tessuto canceroso; però anche le cellule cancerose sono un poco pigmentate. Nelle anse intestinali e più particolarmente nella tonaca muscolare esterna si trovano granulazioni di pigmento prive di ferro (emofuscina-Recklinghausen). La pelle è come nel morbo d'Addison; le capsule surrenali ridotte a metà del loro volume, presentano la zona glomerulosa estremamente pigmentata, e le zone fascicolate e interne sono quasi interamente necrotiche, non essendo più possibile di colorare il nucleo delle cellule il cui protoplasma è omogeneo e vacuolizzato.

Sono note le descrizioni che diversi autori francesi sopratutto hanno fatto di cirrosi ipertrofiche pigmentarie, o di diabete bronzino. Solo uno di essi, il Marie « Leçons de Clinique médicale » cita un caso in cui l'emocromatosi era accompagnata da una grave lesione delle capsule surrenali, colla quale verosimilmente starebbe in rapporto la pigmentazione cutanea. La grave alterazione capsulare sembra essa pure secondaria a quel processo di intossicazione che agì sui globuli rossi, e che nel nostro secondo caso ha anche determinato la necrosi degli elementi pancreatici e renali. La pigmentazione della zona glomerulosa delle capsule era assai verosimilmente dovuta a deposito metastatico.

Da questi casi risulta anche una volta provato che si possono trovare tutte le lesioni della cirrosi ipertrofica pigmentaria senza che vi sia il diabete. Che l'emocromatosi può svilupparsi in soggetto che presenta i segni evidenti di una sifilide costituzionale, oppure in altro che presenta una cirrosi carcinomatosa del fegato, e in nessuno dei due casi eravi una grave emorragia da cui potesse essere derivato il pigmento ematico che infiltrava tutti gli organi. Sebbene la parte che in questi processi hanno le capsule surrenali sia secondaria, pure potrebbe essere ad esse legata quella pigmentazione cutanea che dà al quadro clinico un carattere che fa pensare al morbo di Addisson.

Riflettendo sulle molte cause che possono determinare una distruzione di sangue, e la conseguente emocromatosi, ho rivedute alcune mie vecchie annotazioni intorno ad esperienze fatte con estratti di capsule surrenali iniettati nelle vene di alcuni cani, i quali morendo nelle prime 48 ore per l'azione dell'estratto stesso, presentavano un grande accumulo di cellule globulifere in molti organi; e particolarmente nella milza nelle ghiandole linfatiche e nel midollo delle ossa.

Ciò mi spinse a continuare le ricerche, e a tale scopo ho fatto l'innesto di grossi frammenti di capsula surrenale di vitello nella cavità addominale della cavia, e ho trovato che per l'assorbimento progressivo di sostanza capsulare già dopo 4-5 giorni, la milza e le ghiandole linfatiche addominali, contenevano una enorme quantità di cellule globulifere recenti e di cellule pigmentifere.

In cavie, le quali morivano rapidamente in seguito all'iniezione di estratti densi di capsule nella cavità peritoneale, esisteva pure un'enorme quantità di cellule globulifere non solo nelle lacune venose della milza, ma anche nei seni linfatici delle ghiandole linfatiche. Nelle cellule fagocitarie erano contenuti molti globuli rossi, i quali avevano abbandonata la loro emoglobina, cosicchè il protoplasma della cellula fagocitaria era di un aspetto giallo splendente, e frammezzo si vedevano i globuli rossi, di cui esisteva solo lo stroma.

In molti altri esperimenti che ho fatto successivamente, introducendo per varie vie gli estratti, ho sempre verificato e talora in grande abbondanza l'accumulo di cellule globulifere nella polpa splenica, onde, riflettendo che le cellule incolori non assorbono e non trasformano i globuli rossi del sangue, se questi non hanno perduto la loro vitalità, si può concludere che l'estratto di capsule esercita un'azione deleteria o mortificante sopra di essi. A dir vero si hanno reperti analoghi, introducendo anche estratti di altri organi, come ad esempio quello di cervello, nella cavità peritoneale, ma l'effetto è assai meno intenso.

In seguito ho fatto ricerche per conoscere se le sostanze tossiche che si trovano nel parenchima delle capsule surrenali, avrebbero potuto per introduzione a dosi progressivamente crescenti indurre negli animali una sempre maggiore resistenza verso di esse, ed eventualmente se si fosse potuto ottenere un siero che impedisse gli effetti della intossicazione sopra altri animali. Le mie ricerche a tale scopo furono molto numerose, variando sia la via d'introduzione, sia la quantità delle sostanze introdotte, e la conclusione definitiva è questa; che non ho mai potuto ottenere la dimostrazione che l'animale fosse diventato più resistente per introduzioni successive di estratto, e che in nessun caso ho ricavato un siero valevole anche solo a modificare la sintomatologia ordinaria provocata dalle iniezioni endovenose di estratto. Un altro dato può servire a dimostrare che il modo di diportarsi dell'estratto non è paragonabile a quello dei veleni bacterici o di altri analoghi prodotti, ed è il reperto negativo da me sempre ottenuto coll'esame del sistema nervoso centrale, nei cui elementi non sono riuscito col metodo di Nissl a trovare alcuna alterazione.

Altre ricerche ho fatto sull'azione che l'estratto esercita, ove sia introdotto in quantità determinata nel circolo venoso. Il mio estratto era fatto in proporzioni costanti e precisamente con 2 grammi di capsula di vitello ucciso nella giornata, e 5 cent. cubi di una soluzione fisiologia di NaCl a freddo.

La capsula veniva triturata; indi si aggiungeva il liquido nella proporzione suddetta, e la miscela veniva impiegata subito.

Però si conservava il resto entra provetta sterilizzata con aggiunta di un poco di fenolo, e questa poteva servire ancora per un paio di giorni. Ogni estratto era fatto colle capsule di 4 o 5 vitelli, onde si aveva una qualità media di estratto presso a poco costante. Iniettando da 0,5-1 c. c. di estratto nella v. auricolare del coniglio, questo moriva istantaneamente, oppure dopo poco tempo. Nel 1° caso, si osservava una estesa trombosi acuta delle arterie polmonari; nel secondo caso si otteneva un edema acuto dei polmoni, in cui parecchi piccoli rami arteriosi erano otturati da un trombo fibrinoso. Ma se invece di adoperare tale dose di estratto, si iniettava solo 0,1 di c. c., allora quasi costantemente si otteneva la produzione di un infarto necrobiotico nei reni, e più particolarmente nel rene sinistro, e talora un'emorragia del polmone, e più di raro degli infarti necrobiotici dell'intestino, con esito di estesa ulcerazione.

Con una stessa qualità di estratto ho potuto ottenere a volontà degli infarti del rene di varia epoca, e ripetendo le iniezioni nello stesso animale, sono riuscito ad avere nel medesimo rene una stratificazione di infarti, dal più recente, in cui la mortificazione non era completa, fino al più vecchio in cui eravi già un principio di calcificazione della parte necrotata.

Nell'intestino, secondo i casi, si trovava o la morte parziale dei villi ancora aderenti alla mucosa, o la perdita parziale di tutta la mucosa col fondo dell'ulcera rappresentato da tessuto connettivo necrotico. Nel polmone prevaleva l'infiltrazione emorragica inter e intraalveolare.

Ho eliminato il sospetto che tali risultati fossero dovuti ad emboli, perchè riscaldando a 60° c. la miscela, indi iniettandone la parte più densa non si otteneva più la produzione di infarti. Iniettando una miscela ugualmente densa fatta col fegato o col rene, o con capsula surrenale di coniglio, non

ottenevo i detti infarti, dall'esame dei quali mi risultava che essi erano effettivamente prodotti da una trombosi acuta di piccole arterie.

Talvolta, adoperando una miscela assai diluita; cioè, riducendo il solito estratto alla proporzione di $^1/_{50}$ di c. c. ottenevo la morte dell'animale dopo avere in esso prodotto una paraplegia flacida completa, e nessuna alterazione anatomica vi era dimostrabile, causa il breve tempo in cui durava in vita l'animale. Forse la miscela era troppo diluita perchè vi potesse agire la sostanza coagulante, ma conteneva abbastanza del noto veleno ipertonizzante dei vasi per produrre delle contrazioni durevoli di piccole arterie.

Nei casi, in cui ho fatto delle iniezioni progressivamente crescenti da $^1/_{30}$, $^1/_{20}$, $^1/_{10}$, $^3/_{10}$ di c. c., ho osservato che ad ogni nuova iniezione l'animale reagiva coi soliti sintomi e il suo siero non era capace di prevenirli, anche se iniettato allo stesso tempo dell'estratto.

Negli animali che erano stati trattati con molte iniezioni successive di estratti, si poteva osservare, oltre alla suddetta formazione d'infarti necrobiotici, anche una grande distruzione di cellule incolori, cosicchè nella milza e nel midollo delle ossa si vedevano dei grandi accumuli di detriti nucleari, o di blocchi di cromatina.

Per iniezione sòttocutanea l'estratto di capsula produsse di spesso la necrosi del connettivo nel posto della iniezione; inoltre si osservava molte volte la produzione di un intenso catarro acuto del tubo intestinale. Se l'iniezione era fatta tra le scapole, bene spesso si trovava la produzione di una pneumonite desquammativa, e talora di estese emorragie polmonari alternate ad aree, in cui gli alveoli erano riempiuti da un reticolo fibrinoso, e da pochi epiteli desquammati. La essudazione fibrinosa mantenevasi in comunicazione tra i vari alveoli col mezzo di prolungamenti che attraversavano le pareti dei setti, come nei casi descritti da Kohn, da Hauser, da Fränkel e da Ribbert. Il midollo delle ossa diviene spesso intensamente gelatinoso; la milza contiene poco pig-

mento; le ghiandole linfatiche presentano spesso il così detto catarro dei seni. In rari casi per iniezione sottocutanea, e più di frequente per iniezione endoperitoneale, ho trovato dei corpi liberi nella cavità peritoneale, i quali erano costituiti da un ammasso centrale di detriti di cromatina, di nuclei polimorfi di leucociti e di fibrina e da uno strato più periferico fatto quasi solo di fibrina; infine, da una stratificazione di giovani grossi elementi ricchi di protoplasma, alcuni dei quali sferici con grosso nucleo rotondo, o reniforme, e altri diventati già fusiformi e separati da una sostanza fibrillare. Era un giovine rivestimento connettivo che si andava formando intorno alla sostanza coagulata, e questa essendo mobile nella cavità addominale, così anche il connettivo vi formava dei nastri o delle frangie composte dei suddetti grossi giovani elementi.

L'origine probabile dei corpi liberi, era l'azione coagulante che l'estratto assorbito o direttamente introdotto nella cavità addominale, esercitava sul fibrinogeno disciolto nel liquido intraperitoneale.

Ho fatto altre ricerche iniettando l'estratto direttamente in alcuni organi, e particolarmente nel fegato di cane. Sono riuscito così ad ottenere in pochi giorni una abbastanza estesa epatite interstiziale con abbondante formazione di pigmento.

Il giovine connettivo interlobulare era ricco di elementi, e fra essi eranvi molte cellule gremite di granulazioni giallo-brune, che davano la reazione del ferro, e che derivavano evidentemente da trasformazione in emosiderina dell'emoglobina dei globuli rossi stravasati. I lobuli limitrofi alla neoproduzione presentavano molte cellule epatiche in cariocinesi. Dove il liquido era direttamente penetrato si aveva una mortificazione del tessuto, e tutto intorno ad esse erasi fatta l'infiammazione interstiziale.

Avendo tentato l'iniezione parenchimatosa del fegato in un grosso cane, di una grande quantità di liquido, ebbi la morte dell'animale entro 24 ore, col reperto di embolismi

multipli di cellule epatiche nei vasi portali, e nei vasi del rene e con trasporto embolico evidentemente recente di megacariociti nei capillari del polmone. Evidentemente dal fegato andarono in circolo molte cellule epatiche e queste giunte al midollo delle ossa vi determinarono un'alterazione di circolazione col conseguente trasporto embolico di megacariociti, come avviene quando si faccia direttamente nelle vene un'iniezione di elementi parenchimatosi (Lubarsch). L'iniezione parenchimatosa nel rene di un cane del medesimo estratto adoperato per la produzione dell'epatite interstiziale in un altro animale, ha dato origine a una profonda necrosi estesa dei canalicoli contorti e della sostanza midollare, quale non si ottiene iniettando, invece, una miscela ugualmente densa fatta con altri organi, p. e., col fegato o colla stessa capsula surrenale di coniglio e di cavia, la cui azione necrotizzante è per il coniglio assai meno intensa di quella che esercita a dose uguale la capsula di vitello.

Da ultimo ho ripetuto esperienze già fatte da qualche altro autore sull'azione che l'estratto di capsule esercita sulle stesse capsule soprarenali dell'animale che è stato iniettato, e ho trovato che in pochi giorni e dopo piccole dosi d'estratto introdotte a intervalli di tempo, si ottiene la presenza di numerose figure cariocinetiche nella sostanza corticale. Sospendendo le iniezioni, cessa la fase proliferativa, e si trova invece, che le cellule anche nella zona glomerulosa hanno un protoplasma ricchissimo di grosse granulazioni.

Ho del pari iniettato le tossine di *bacillus coli*, colle quali a parità di dose e di tempo ho ottenuto dei risultati costanti uguali ai precedenti; cioè una proliferazione notevole della sostanza corticale, seguìta da una sovrattività funzionale o secretoria. In tutte queste mie ricerche io non ho trovato mai nessuna variazione in quelle cellule che costituiscono la vera sostanza midollare e la cui reale natura è ancora tanto discussa.

Se invece di adoperare delle piccole dosi di tossina, ne iniettavo più alte dosi, cosicchè l'animale ne moriva in 36-48 ore, allora trovavo delle gravi congestioni ed emorragie nelle

capsule, e una trasformazione areolare delle cellule particolarmente nella zona media. Il protoplasma conteneva una quantità di vacuoli entro cui era un corpo omogeneo rifrangente, sottile e poco colorabile, derivato dalla trasformazione dei granuli del protoplasma.

Questa alterazione può presentarsi in gradi diversi, e vi sono altri veleni che producono un solo grande vacuolo nella cellula contenente un corpo omogeneo come sopra ho descritto. Tale degenerazione del protoplasma ho avuto nel coniglio avvelenato con solfato di chinino, e questo fu anche l'unico caso in cui ho trovato estremamente atrofiche areolate anche le cellule della sostanza midollare.

Dalle mie ricerche risulta evidente che la sostanza la quale produce la coagulazione e le necrosi varie nei tessuti, è diversa da quella isolata dai fisiologi, e che è capace di elevare il tono muscolare in genere, e quello cardiaco-vascolare in ispecie.

Questa agisce anche in minime dosi e resiste a trattamenti che distruggono, invece, la sostanza suddetta. È probabile che la natura di questa ultima appartenga al nucleo albumine, ma su tale proposito mi riservo ulteriori ricerche.

G. Bizzozero, *Direttore Responsabile*.

Torino — Tipografia Vincenzo Bona.

